



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

**Facultad de Ciencias Químicas y Centro de Química-Instituto de
Ciencias**

Posgrado en Ciencias Químicas

**Síntesis y evaluación antiproliferativa de derivados
esteroidales conteniendo un ciclo tipo pirimidina.**

M.C. María Alejandra Cortés Percino

Director

Codirector

Dr. José Luis Vega Báez

Dra. Sara Montiel Smith

Octubre 2021



BUAP

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por la Dra. Penélope Merino Montiel, Dra. Roxana Martínez Pascual, Dra. Anabel Romero López, Dr. Jorge Rigoberto Juárez Posadas y el Dr. Víctor Gómez Calvario, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada “**Síntesis y evaluación antiproliferativa de derivados esteroideos conteniendo un ciclo tipo pirimidina**”, que presenta la alumna **M.C. María Alejandra Cortés Percino** para obtener el grado de Doctora en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los cuatro días del mes de octubre del año dos mil veintiuno.

ATENTAMENTE

Dra. Penélope Merino Montiel

Dra. Roxana Martínez Pascual

Dra. Anabel Romero López

Dr. Jorge Rigoberto Juárez Posadas

Dr. Víctor Gómez Calvario



El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección del Dr. José Luis Vega Báez y la Dra. Sara Montiel Smith.

Se otorgó el apoyo por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) mediante la beca doctoral.

Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

Parte de los resultados de este proyecto de tesis fueron publicado en:



Article

Synthesis and Evaluation of Pyrimidine Steroids as Antiproliferative Agents

Alejandra Cortés-Percino ¹, José Luis Vega-Báez ¹, Anabel Romero-López ², Adrián Puerta ³, Penélope Merino-Montiel ¹ , Socorro Meza-Reyes ¹, José M. Padrón ^{3,*} and Sara Montiel-Smith ^{1,*}

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Ciudad Universitaria, 72570 Puebla, Pue., Mexico; ale891930@hotmail.com (A.C.-P.); jose.vega@correo.buap.mx (J.L.V.-B.); penelope.merino@correo.buap.mx (P.M.-M.); maria.meza@correo.buap.mx (S.M.-R.)

² Instituto de Física “Luis Rivera Terrazas” Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Ecocampus Valsequillo, 72960 San Pedro Zacachimalpa, Pue., Mexico; anabelrl@ifuap.buap.mx

³ BioLab, Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio González” (IUBO-AG), Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN), Universidad de La Laguna, c/ Astrofísico Francisco Sánchez 2, 38206 La Laguna, Spain; apuertaarochoa@gmail.com

* Correspondence: jmpadron@ull.es (J.M.P.); maria.montiel@correo.buap.mx (S.M.-S.); Tel.: +34-922-316-502 (ext. 6126) (J.M.P.); +52-222-2295500 (ext. 7382) (S.M.-S.)

Received: 4 September 2019; Accepted: 11 October 2019; Published: 12 October 2019



Abstract: A small and focused library of steroidal non-fused and fused pyrimidines was prepared from pregnenolone acetate and diosgenin, respectively. The key step was the cycloaddition reaction of nitrogen-containing 1,3-binucleophiles with the steroidal α,β -unsaturated ketone. Urea, thiourea and guanidine reacted in a similar manner and afforded the steroidal pyrimidines in good yields. The antiproliferative tests against human tumor cell lines gave GI_{50} values in the micromolar range and had no effect on healthy fibroblasts. Additional experiments indicated that the compounds did not act as P-glycoprotein substrates, thus avoiding the rise of drug resistance. The fused steroidal pyrimidinethione was selected as drug lead for further testing due to its strong antiproliferative activities within the low micromolar range.

Keywords: steroids; pyrimidine; heterocycle; cycloaddition reactions; antiproliferative activity

1. Introduction

The direct use of natural products as drugs is limited because their physicochemical properties are often far from ideal. However, they represent an excellent starting point in drug discovery programs. In fact, 50% of approved drugs have a natural origin and many synthetic compounds were disclosed as using natural products [1–3]. In the particular case of cancer, the amount of natural product-based drugs rises up to 55%.

When considering the chemical structure of small-molecule approved drugs, 59% of them contain a nitrogen heterocycle [4]. From this subset, six-membered rings (59%) are the most common, followed by five-membered (39%) and fused rings (14%). In particular, pyrimidine approved drugs are used for the treatment of three main disease classes: anti-infective, cardiovascular, and oncological. It has been reported that the conjugation of a pyrimidine moiety with a steroidal framework resulted in a synergistic effect of both biologically active molecular scaffolds providing new compounds with antiproliferative [5–9] (Figure 1), antioxidant [10], anti-Alzheimer [11], or antibacterial properties [12].

Based on the beneficial importance of these hybrid scaffolds, we moved our attention to the synthesis of steroidal pyrimidines in order to look for new antiproliferative compounds. We have previously reported some monomeric and dimeric steroidal triazolopyrimidine derivatives [13] and a

Índice

Abreviaturas y siglas	1
Compuestos nuevos	4
1. Resumen	6
1.1 Abstract	9
2. Introducción	12
3. Antecedentes	15
3.1 Compuestos heterociclos nitrogenados y su importancia biológica	15
3.2 Síntesis de pirimidinas	17
3.3 Síntesis de pirimidinas esteroideas	18
3.4 Síntesis de pirimidinas no esteroideas	21
3.5 Obtención de compuestos pirimidínicos mediante una reacción multicomponente: <i>one-pot.</i>	23
4. Objetivos	29
4.1 Objetivo General	29
4.2 Objetivos Particulares	29
5. Discusión de resultados	30
5.1 Síntesis de pirimidinas esteroideas	30
5.1.1 Química	30
5.1.3 Caracterización de los compuestos pirimidínicos no fusionados	34
5.1.4 Caracterización de los compuestos pirimidínicos fusionados	37
5.1.5 Compuestos pirimidínicos espiroestánicos	42
5.2 Pruebas biológicas	42
5.2.1 Actividad antiproliferativa	42
5.3.1 Química	45
5.3.1.1 Síntesis de compuestos espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona	45
5.3.2 Caracterización del líquido iónico y compuestos espiro dehidroquinolin- 4(1H)-ona	52

5.3.3 Síntesis de espiroquinazolinas esteroideas a partir de estrona y <i>trans</i> -dehidroandrosterona.....	57
5.3.3.1 Caracterización de espiroquinazolinas esteroideas a partir de estrona y <i>trans</i> -dehidroandrosterona.....	58
5.4 Actividad antiproliferativa.....	65
5.5 Cálculos computacionales	66
Síntesis de pirimidinas mediante una reacción <i>one pot.</i>	69
5.6.1 Química.....	69
5.6.1.2 Caracterización de pirimidinas mediante una reacción <i>one pot.</i>	70
5.7 Reacciones multicomponentes.....	74
5.7.1 Química.....	74
5.7.1.2 Caracterización de reacciones multicomponentes	77
5.7.2 <i>Docking</i>	78
5.8 Reacciones <i>one-pot.</i>	80
5.8.1 Diseño	80
5.8.1.1 Acoplamiento molecular sobre la enzima anhidrasa carbónica IX.....	80
5.8.2 Química.....	84
6. Conclusiones.....	88
7. Desarrollo experimental.....	91
7.1 Materiales y métodos	91
7.1.1 Química.....	91
7.1.1.1 Métodos generales	91
7.2 Compuestos pirimidínicos de la serie no fusionada.....	92
7.2.1 Procedimiento general para la preparación de 3a-3c	92
7.2.2 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-iminopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (3a).....	92
7.2.3 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-oxopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (3b)	93
7.2.2.3 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-tioxopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (3c).....	94
7.3 Compuestos pirimidínicos fusionados	94
7.3.1 Procedimiento general para la preparación de 7a-c	94
7.3.3.2 1',3'-dihidro-2'-imino- 4'-metilpirimidín-(6',5':16,17)-androst-5-en-3 β -ol (7a)	95
7.3.3.3 1',3'-dihidro-4'-metil-2'-oxopirimidín-(6',5':16,17)-androst-5-en-3 β -ol (7b).....	95

7.3.3.4 1',3'-dihidro-4'-metil-2'-tioxopirimidín-(6',5':16, 17)-androst-5-en-3 β -ol (7c)	96
7.4 Síntesis de compuestos espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona	97
7.4.1 Síntesis del bisulfato de 1-metil-3-(4'-sulfobutil)-imidazolio (liquido iónico)	97
7.4.2 Procedimiento general para la obtención de espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona	97
7.4.2 (17S)-3 β -hidroxiespiro[5 α -androstan-17,2'-dihidroquinazolin]-4'(1H)-ona (15a).....	98
7.4.3 (17R)-3 β -hidroxi-espiro[5 α -androstan-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona (15b)	100
7.4.4 17S)-3 β -hidroxi-espiro[androstan-5-en-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona (16a)	101
7.4.5 (17R)-3 β -hidroxi-espiro[androst-5-en-17,2'-dehidroquinazolin]-4' (1H) (16b) ...	102
7.4.6 (17S)-3-benciloxi-espiro[estra-1,3,5(10)-trien-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona (17)	103
7.5 Síntesis de dehidropirimidinas.	104
7.5.1 Procedimiento general	104
7.5.2 2'-imino-1',3',6'-trihidro-6'-(4-metoxi-phenilpirimidín)-[4',5':16,17]-5 α -androst-5-3 β -ol (18a)	104
7.5.3 2'-imino-1',3',6'-trihidro-6'-phenilpirimidín-[4',5':16,17]-5 α -androst-3 β -ol (19a) ..	105
7.6 Síntesis de derivados pirimidícos.....	106
7.6.1 Procedimiento general	106
7.6.3 pirimidín-[4',5':16,17]-androst-5-en-3 β -ol (21)	107
7.6.4 3-benciloxi-pirimidín-[4',5':16,17]-estra-1,3,5(10)-trieno (22).....	107
8. Bibliografía	109

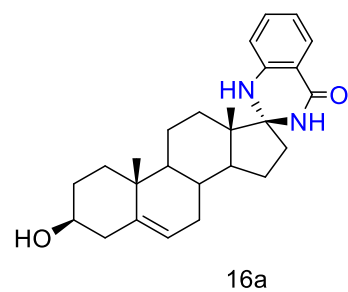
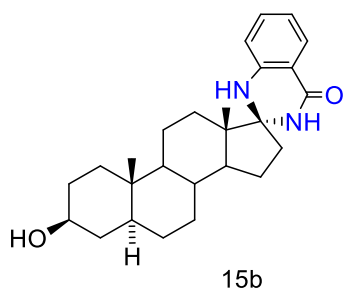
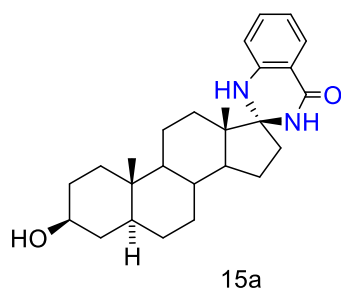
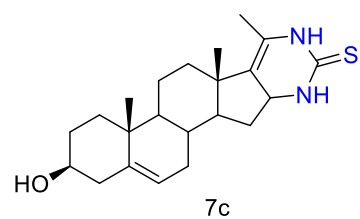
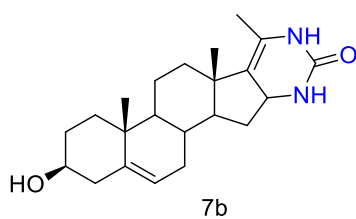
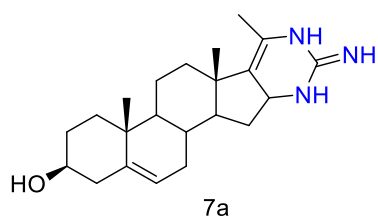
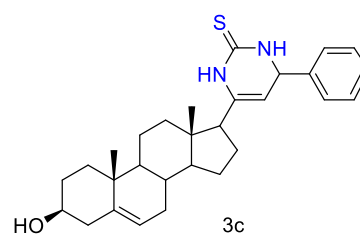
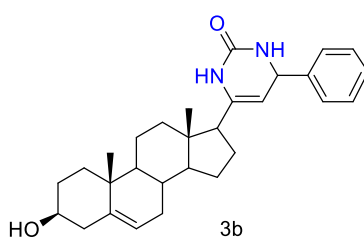
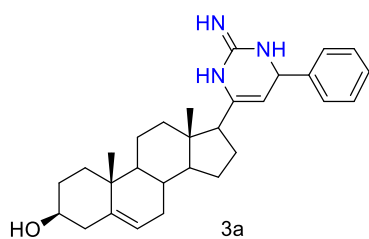
Abreviaturas y siglas

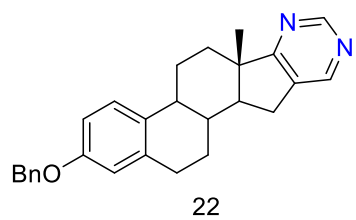
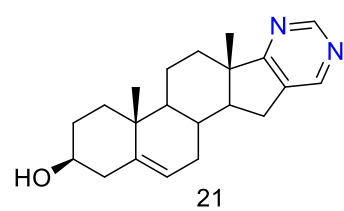
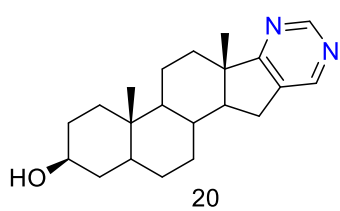
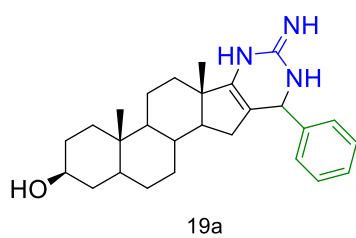
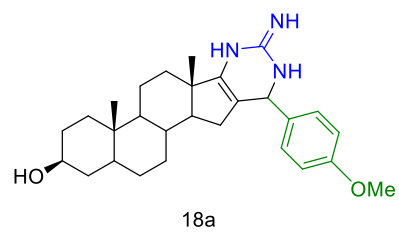
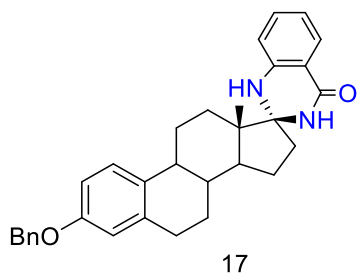
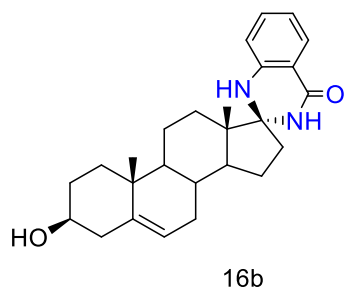
AATF	Anhídrido acético trifluoroacético
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
BAILs	Ácido líquido iónico Brönsted
BnBr	Bromuro de bencilo
BF ₃ ·OEt ₂	Eterato de tfluoruro de boro
<i>c</i>	Concentración
<i>m/z</i>	Carga/masa
Cys-Gly-Cys	Cisteína-Glicina-Cisteína
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i> (por sus siglas en ingles)
IG ₅₀	Concentración del compuesto necesaria para inhibir el 50% del crecimiento celular
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
CCF	Cromatografía en capa fina
δ	Desplazamiento químico
DCM	Diclorometano

d	Doble
dd	Doble de doble
ddd	Doble de dobles de doble
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	<i>N,N</i> -Dmetilformamida
Δ	Doble enlace
EI	Impacto electrónico
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
HMBC	<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear single quantum correlation</i>
Hz	Hertz
Ils	Líquido iónico
IR	Infrarrojo
m	Multiple
MHz	Megahertz
μ M	Micromolar
MCRs	Reacciones multicomponentes
MW	Microondas
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NPY	Antagonista de neuropéptido
PC	Pocentaje de crecimiento

ppm	Partes por millón
p.f.	Punto de fusión
THF	Tetrahidrofurano
TEA	Trietilamina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rt	Temperatura ambiente
$[\alpha]_D^{25}$	Rotación específica
s	Simple
sa	Simple ancha
	Ultrasonido
UV	Ultravioleta
w/w	Peso/peso

Compuestos nuevos



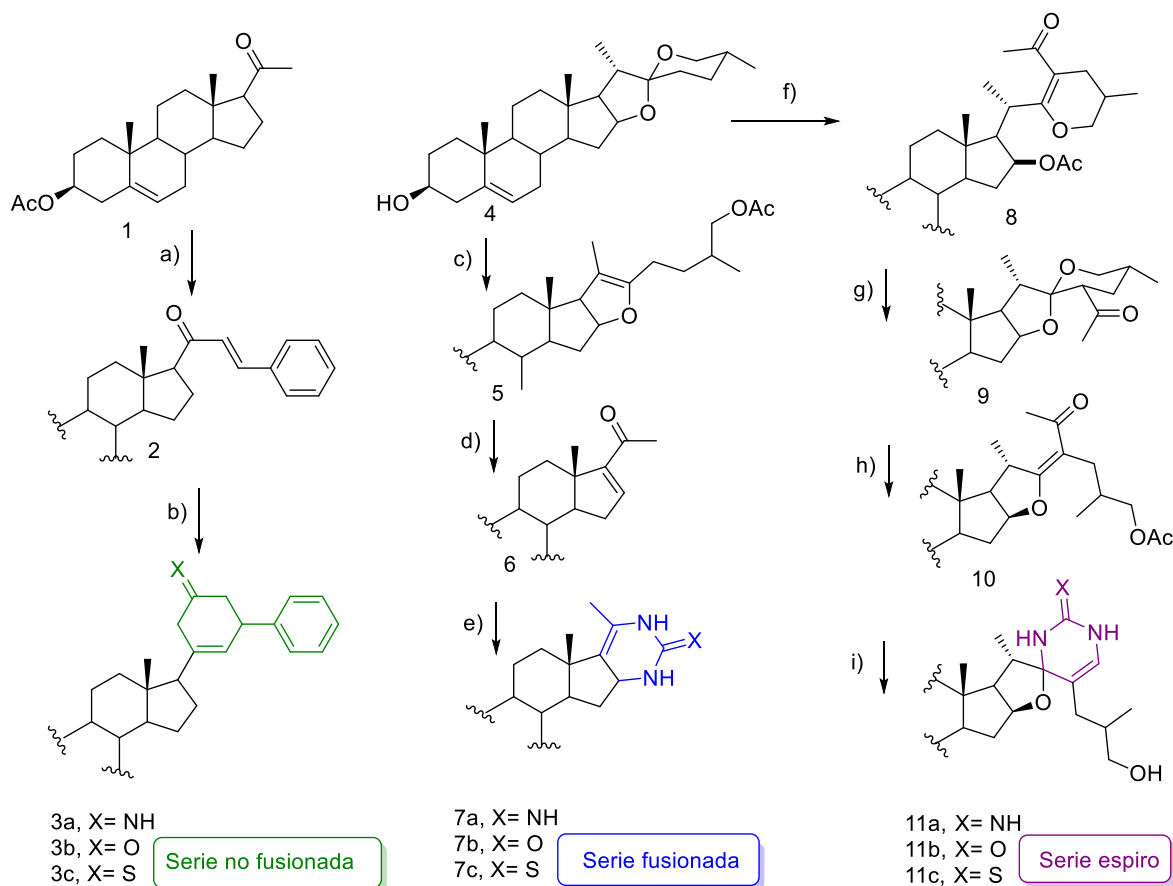


1. Resumen

En el presente trabajo se describe la síntesis de nuevos derivados esteroideos conteniendo heterocícllos pirimidínicos tipo espiro o fusionados al anillo D o E. Para la síntesis de los compuestos de interés, se utilizarón diferentes rutas descritas en la literatura cuya preparación se realizó mediante una cicloadición de cetonas α,β -insaturadas esteroideas con un agente binucleófilo (urea, tiourea, guanidina).

Daba la experiencia en nuestro grupo de investigación, la primera estrategia utilizada para la formación de los heterocícllos de 6 miembros consistió en una cicloadición entre una cetona α,β -insaturada y un derivado binucleofílico. En una primera etapa se planteó la síntesis de las cetonas α,β -insaturadas como intermediarios; para su obtención en la mayoría de los casos se utilizaron metodologías desarrolladas por nuestro grupo de investigación a partir de sapogeninas esteroideas, y en su caso, fueron realizados estudios para la optimización de las mismas.

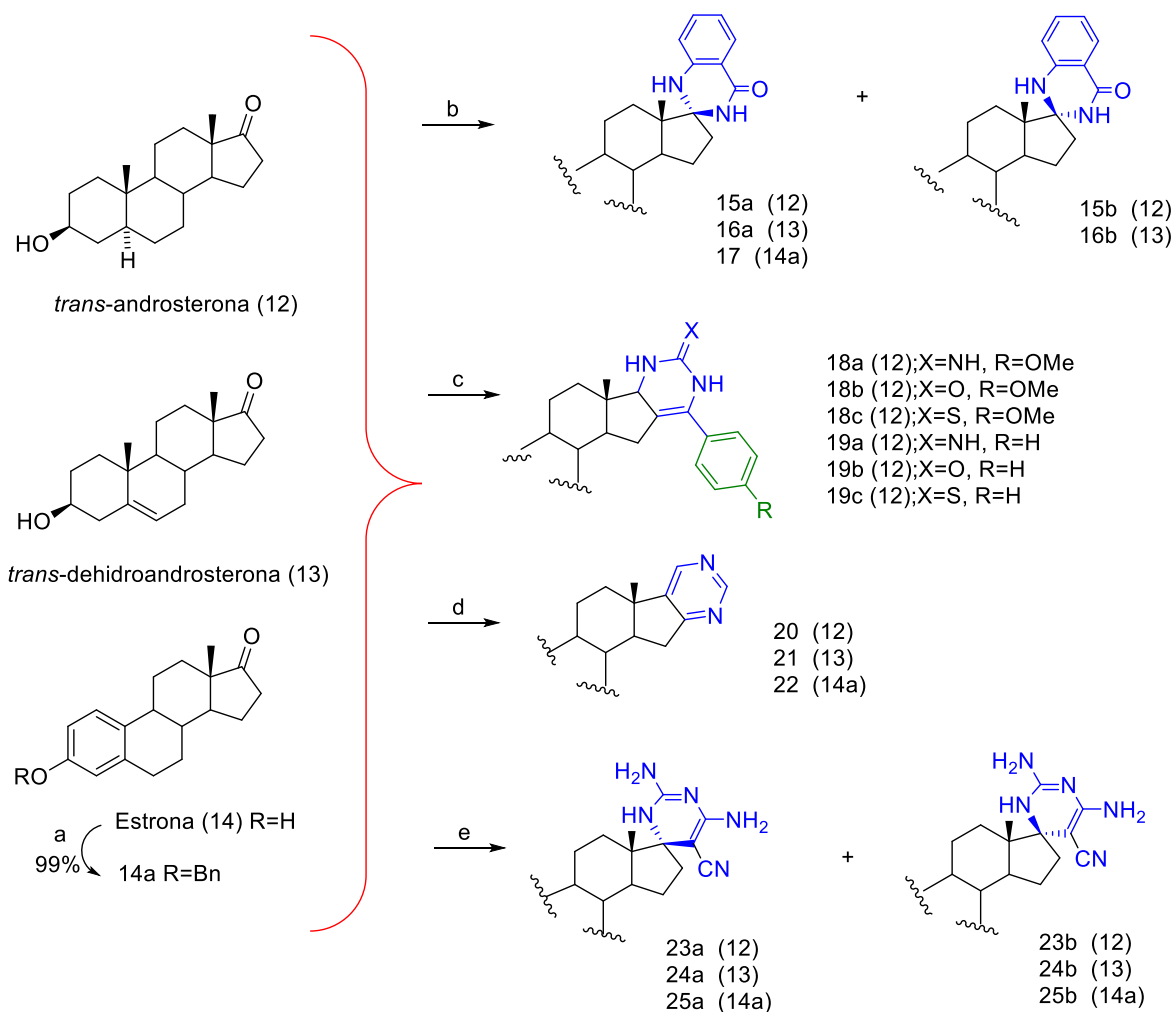
La formación de pirimidinas incluye la adición 1,4 de agentes 1,3-binucleofilos a una enona y la posterior adición intramolecular de un grupo NH_2 a la cetona seguida de la eliminación de H_2O . Se trabajó con guanidina, urea y tiourea como agentes 1,3-binucleofílicos, con el fin de preparar dos series de pirimidinas esteroideas, esteroides pirimidínicos fusionados y no fusionados (Esquema 1).



(a) PhCHO, KOH, EtOH, rt, 98%; (b) t-BuOK (THF 1M solución), BuOH, guanidina, urea, o tiourea, 56-68%; (c) BF₃·Et₂O, ATFAA, CH₂Cl₂, rt, 93%; (d) CrO₃, AcOH, DCM, H₂O, 0 °C rt, 82%; (e) KOH, EtOH, guanidina, urea, o tiourea, reflujo, 52-65%; (f) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 90%; (g) KOH/ MeOH 20%, rt, 98%; (h) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 85%; t-BuOK (THF 1M solución), BuOH, guanidina, urea, o tiourea, reflujo.

Esquema 1. Síntesis de pirimidinas fusionadas, no fusionadas y espiroestánicas

Considerando la importancia química, farmacológica y medicinal de los compuestos espiránicos, se ensayó la reacción de ciclocondensación tipo *one-pot* empleando diferentes condiciones de reacción reportadas en la literatura con tres esteroides como materia prima, como se muestra en el esquema 2.



a) BnBr, K₂CO₃, CH₃CN, reflujo, b) 2-aminobenzamida, BF₃OEt or BAIL, CH₃CN, reflujo, c) CH₄N₂X (X=O,S), KOH/EtOH, C₆H₄CHOR (R=H, OMe), reflujo. d) HC(OEt)₃, NH₄OAc, ZnCl₂, Tolueno, 100° C, e) CNCH₂CN, (CH₅N₃)₂*H₂CO₃, MeOH, reflujo.

Esquema 2. Síntesis de esteroides tipo pirimidínicos a partir de una reacción *one-pot*.

Todos los compuestos fueron caracterizados por métodos espectroscópicos tales como RMN, IR, UV y espectrometría de masas.

Finalmente, se evaluó su actividad antiproliferativa de algunos productos.

1.1 Abstract

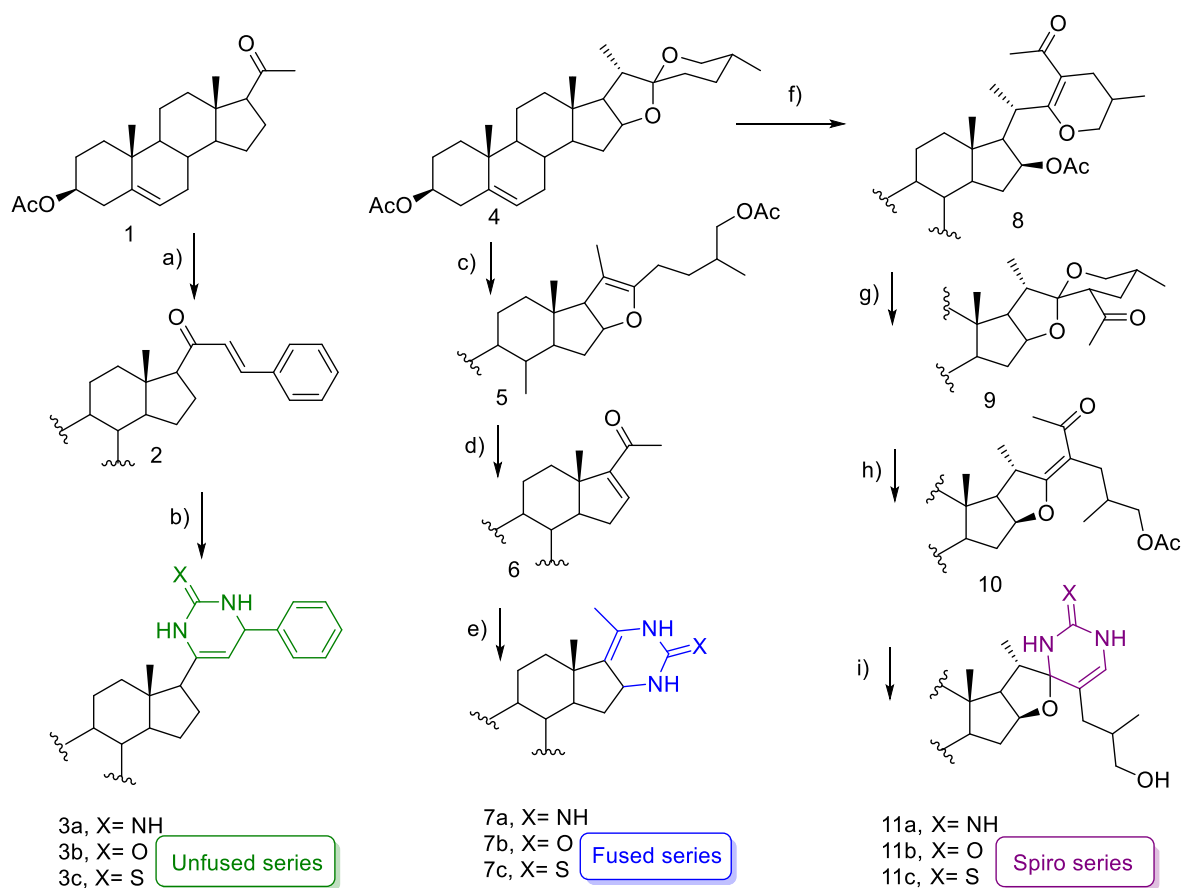
The present work describes the synthesis of new steroidal derivatives containing spiro-type pyrimidine heterocycles or fused to the D or E ring. Target compounds were synthesized using optimized protocols previously reported in the literature. The synthetic strategy consisted of a cycloaddition of steroidal α,β -unsaturated ketones with a binucleophilic agent (urea, thiourea, guanidine).

Steroidal α,β -unsaturated ketones were prepared using optimized methodologies developed in our research group. Then, these intermediates were reacted with the corresponding binucleophilic derivative in order to obtain the desired 6 membered heterocycles.

In a first stage, the synthesis of α,β -unsaturated ketone as intermediates was proposed. To obtain it, in most cases, methodologies developed by our research group from steroidal sapogenins were used and where appropriate, studies were carried out to optimize them.

Two series of steroidal, non-fused and fused pyrimidines were prepared from pregnenolone and diosgenin. Cycloaddition reaction of nitrogen-containing 1,3-binucleophiles with a steroidal α,β -unsaturated ketone was used as the key step (Scheme 1)[58].

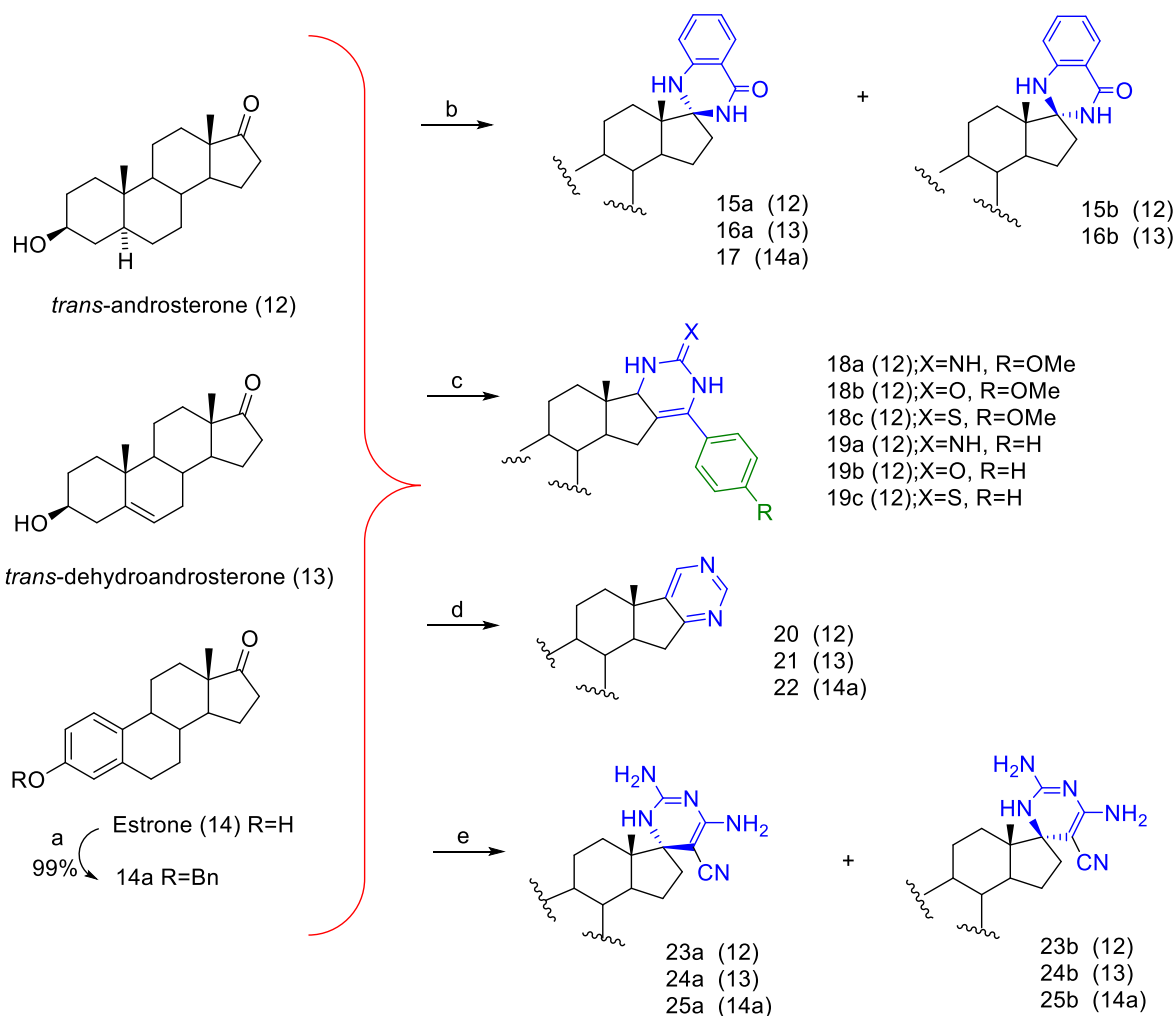
.



(a) PhCHO, KOH, EtOH, rt, 98%; (b) t-BuOK (THF 1M solution), BuOH, guanidine, urea, o thiourea, 56-68%; (c) BF₃·Et₂O, ATFAA, CH₂Cl₂, rt, 93%; (d) CrO₃, AcOH, DCM, H₂O, 0 °C rt, 82%; (e) KOH, EtOH, guanidine, urea, o thiourea, reflux, 52-65%. (f) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 90%; (g) KOH/ MeOH 20%, rt, 98%, (h) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 85%, t-BuOK (THF 1M solution), BuOH, guanidine, urea, o thiourea, reflux.

Scheme 1. Synthesis of fused, unfused and spirostane pyrimidines.

Considering the chemical, pharmacological and medicinal importance of spiranic compounds, we tested a *one-pot* type cyclocondensation reaction using different reaction conditions previously reported with three steroids as starting materials (Scheme 2).



a) BnBr, K₂CO₃, CH₃CN, reflux, b) 2-aminobenzamide, BF₃OEt or BAIL, CH₃CN, reflux, c) CH₄N₂X (X=O,S), KOH/EtOH, C₆H₄CHOR (R=H, OMe), reflux. d) HC(OEt)₃, NH₄OAc, ZnCl₂, Toluene, 100° C, e) CNCH₂CN, (CH₅N₃)₂*H₂CO₃, MeOH, reflux.

Scheme 2. Synthesis of pyrimidine steroids from a *one-pot* reaction.

The compounds were characterized by spectroscopic methods such as NMR, IR, UV and mass spectrometric.

Finally, some products were evaluated for their antioxidative and antiproliferative activity.

2. Introducción

De acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS), el cáncer es el proceso llamado *metástasis*, el cual se define como un crecimiento de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos. [1]. Por lo tanto, el cáncer representa uno de los problemas de salud en todo el mundo y ha motivado al desarrollo de nuevos fármacos, así como tratamientos eficientes, disminuyendo reacciones adversas. EN la actualidad, es la segunda causa de muerte a nivel mundial, ya que en el año 2015 provocó 8.8 millones de defunciones, y los tipos de cáncer pulmonar, hepático, colorrectal, gástrico y mamario son los responsables del mayor número de fallecimientos; ya que aproximadamente un 30% de las muertes por cáncer se atribuyen a cinco importantes factores de riesgos comportamentales y alimenticios (índice de masa corporal elevado, consumo insuficiente de frutas y verduras, falta de actividad física y consumo de tabaco y alcohol) [1].

Los tratamientos más comunes para combatir el cáncer son la cirugía, quimioterapia y radioterapia, los cuales producen importantes efectos secundarios nocivos no deseados, es por ello que ha surgido una creciente necesidad de fármacos anticancerígenos nuevos, que sean específicos y no tóxicos, disminuyendo de manera significativa los efectos secundarios.

El diseño de nuevas moléculas, así como novedosas rutas sintéticas de fármacos representa una alternativa de nuevas alternativas. Hay un gran número de

compuestos heterocíclicos farmacológicamente activos de los cuales muchos están en uso clínico [2, 3].

Los heterociclos que contienen nitrógeno se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, desempeñando un papel vital en el metabolismo de todas las células vivas. Entre éstos, las pirimidinas representan uno de los heterociclos más prevalentes encontrados como derivados de ácidos nucleicos [4], vitaminas (vitamina B1) [5], antibióticos [6], alcaloides [7], y toxinas [8].

Dentro de los compuestos heterociclos nitrogenados, podemos encontrar a una amplia gama de compuestos de los cuales, el núcleo de pirimidina se puede encontrar en muchas moléculas de interés biológico, farmacéutico y de origen natural tal como tiamina, adenina, voriconazol y avitriptano (Figura 1), los cuales se han utilizado como un intermediarios en el descubrimiento de nuevos fármacos [9].

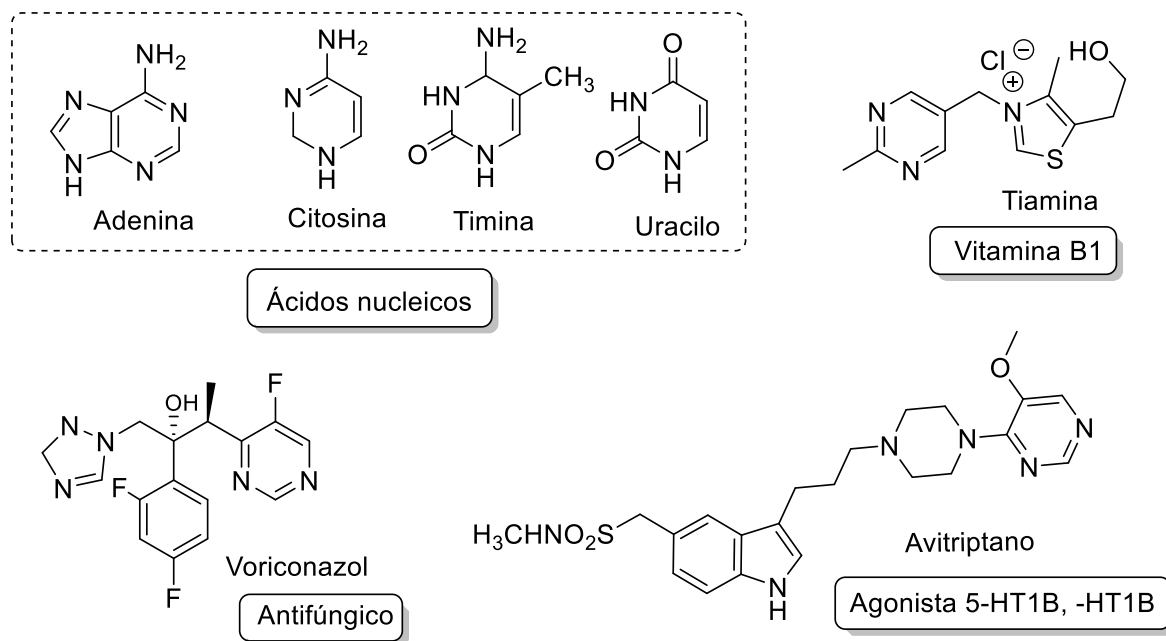


Figura 1. Ejemplos de compuestos tipo pirimidina de origen natural.

En la literatura se describe la importante actividad anticancerígena de algunos derivados de pirimidinas [10], los cuales al ser combinados con otros compuestos como es el caso del benzimidazol, que es un isómero de nucleosidos de purina y un importante andamio en moléculas activas como agentes anticancerígenos demostró un incremento en la actividad citotóxica sobre diferentes líneas celulares (MGC-803, MCF-7, EC-109, PC-3) [11].

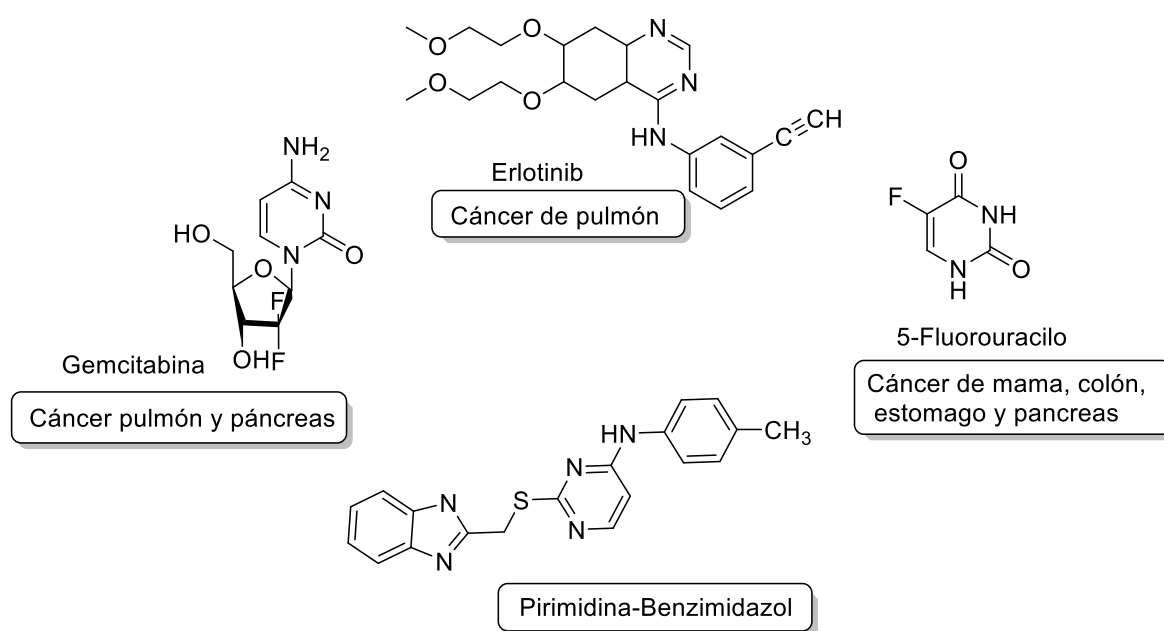


Figura 2. Ejemplos de derivados de pirimidina con actividad anticancerígena.

En la búsqueda de nuevos compuestos conteniendo pirimidina, consideramos necesario diseñar nuevas rutas de síntesis que permitan la obtención de nuevas pirimidinas esteroidales en el anillo D del núcleo esteroidal, mediante diversas metodologías de síntesis.

3. Antecedentes

3.1 Compuestos heterociclos nitrogenados y su importancia biológica

Los heterociclos que contienen uno o más átomos de nitrógeno se consideran estructuras valiosas, desde los puntos de vista farmacéutico y químico [5]. El desarrollo de diferentes rutas sintéticas [6] ha permitido tener un gran número de compuestos con estos fragmentos, y que se han podido evaluar algunas de sus actividades biológicas. En el proceso de descubrimiento de fármacos son propiedades predecibles, los compuestos con actividades tales como antifúngicos, analgésicos, antiinflamatorios, antibacterianos, anticancerígenos, anti trastornos neurológicos, entre otros [7].

Con respecto a los compuestos nitrogenados, los derivados de pirimidina representan una clase importante de compuestos diazoheterocíclicos, los farmacóforos basados en esta estructura tienen una enorme importancia en la química moderna, ya que tienen numerosas actividades biológicas [8-10]. Están presentes como subunidades en una variedad de productos naturales [11, 12], como vitaminas, coenzimas, ácidos nucleicos y diversas moléculas sintéticas terapéuticamente importantes. La conjugación de una fracción de pirimidina con un núcleo esteroideo ha permitido un efecto sinérgico de los farmacóforos biológicamente activos como la citotoxicidad o actividades antitumorales [13-21], antioxidante [16], anti-Alzheimer [22], antibacteriano [23], etc.

Por otro lado, los heteroesteroides particularmente los azaesteroides han surgido como moléculas farmacéuticamente importantes debido a sus propiedades

biológicas inherentes, y por lo tanto, los investigadores en la química medicinal, han prestado suma atención a derivados esteroides fusionados con isoxazol, pirazol, piridina y anillos de pirrol [23, 24].

Algunos ejemplos de derivados esteroidales pirimidínicos han sido reportadas como moléculas biológicamente activas (Figura 3), el compuesto I, ha mostrado actividad antibacteriana prometedora, [25], mientras que el compuesto II ha mostrado ser un potente antineuroinflamatorio [26].

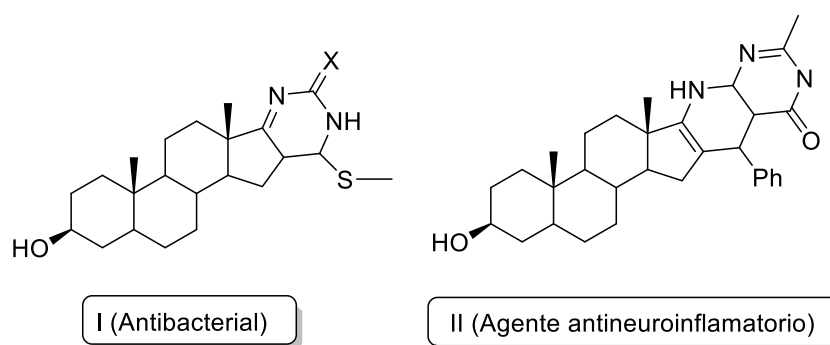
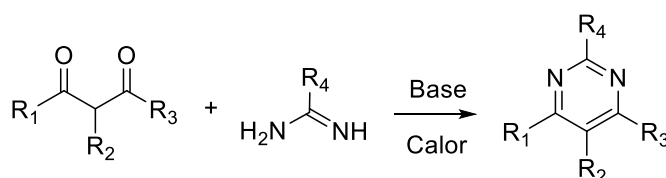


Figura 3. Ejemplos de derivados pirimidínicos esteroidales con actividad biológica.

Por lo tanto, los derivados de dihidropirimidina son importantes moléculas bioactivas que poseen una amplia gama de propiedades farmacológicas, como antiviral, antibacteriana, antiinflamatoria, antiarrítmica [27]. Además de los bloqueadores de los canales de calcio, antihipertensivos, anticancerígenos [28, 29, 30], agonistas adrenérgicos $\alpha 1a$, antagonistas del neuropéptido Y (NPY) [31, 32].

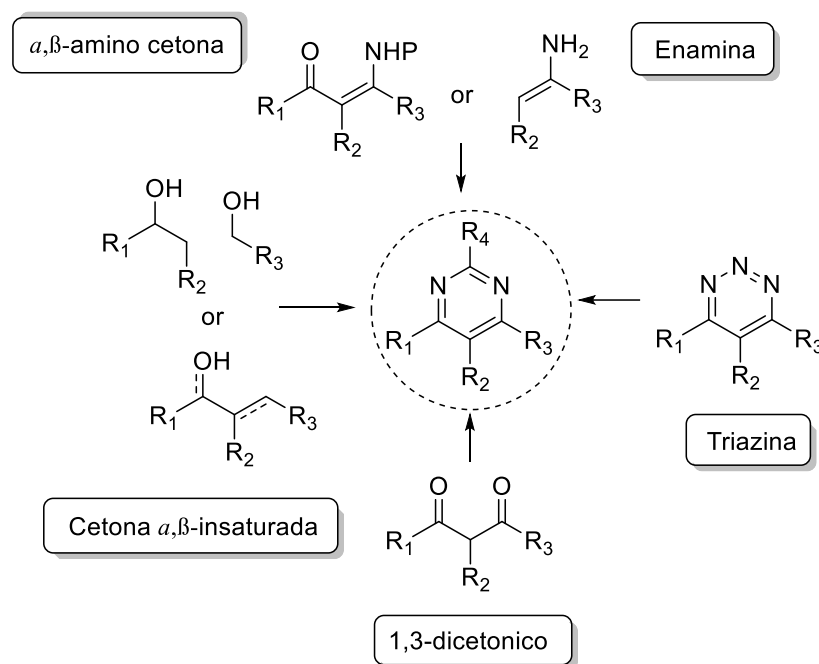
3.2 Síntesis de pirimidinas

La importancia química de los compuestos pirimidínicos y su actividad biológica, ha incentivado que varios grupos de investigación en la búsqueda de nuevas y novedosas rutas de síntesis de pirimidinas. Más allá de las primeras síntesis históricas; el enfoque más favorecido a las pirimidinas había sido la síntesis de Pinner [33], la cual resulta de la condensación entre una amidina o una urea y un derivado 1,3-dicarbonílico (Esquema 1); de esta manera se logra la obtención de una gran variedad de pirimidinas sustituidas.



Esquema 3. Síntesis clásica de Pinner.

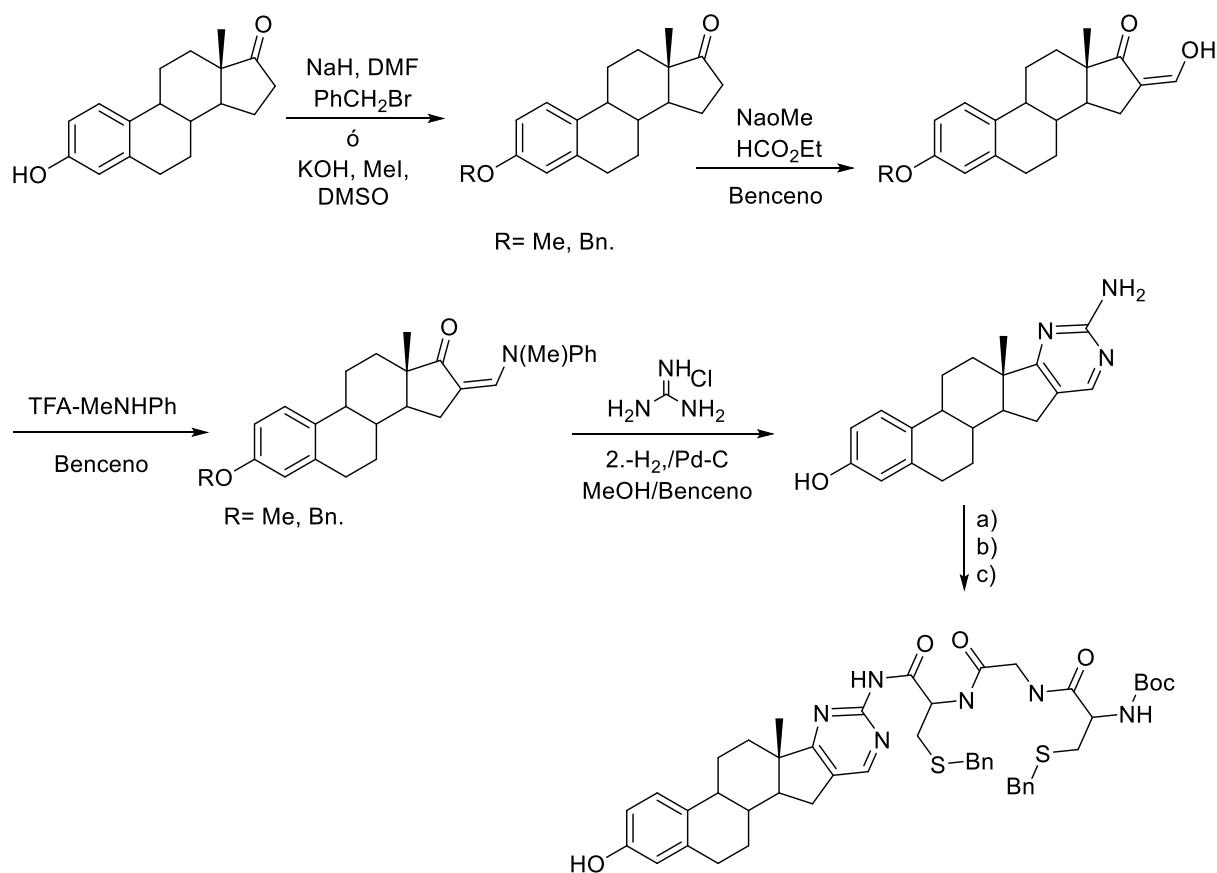
Sin embargo, las condiciones de reacción drásticas, así como rendimientos bajos, han incentivado el estudio de una amplia gama de estrategias para construir un anillo pirimidínico, desde la cicloadición a partir de cetona de α,β -insaturada, α,β -amino cetona, enamina, triazina o un sistema dicetonico (Esquema 2).



Esquema 4. Estrategias sintéticas para la obtención de pirimidinas.

3.3 Síntesis de pirimidinas esteroideas

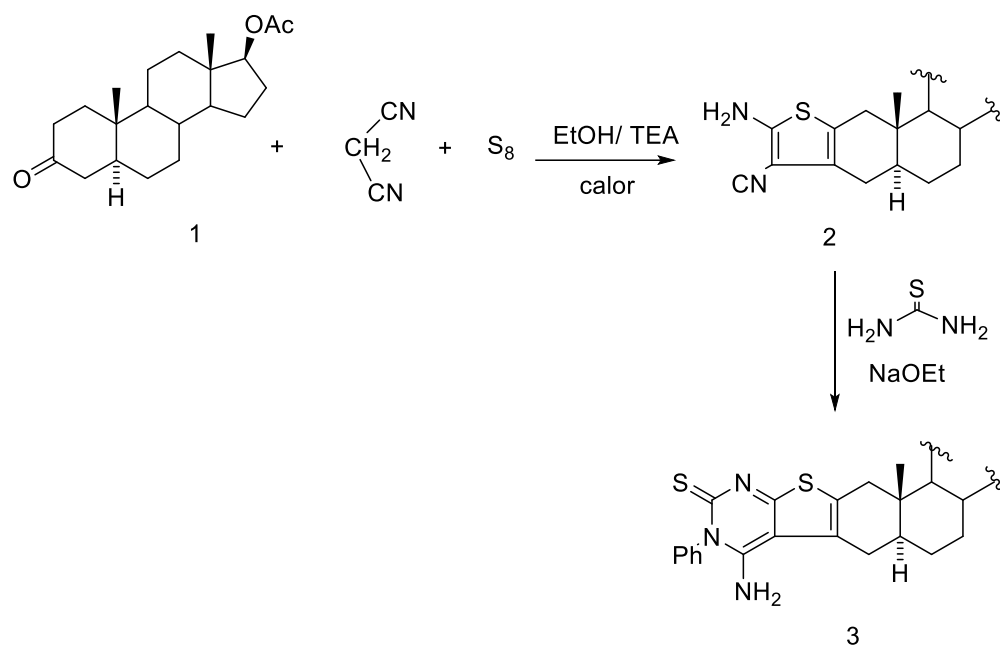
En el 2003; Matsumoto reportó la preparación de un heterociclo esteroideo unido al tripéptido Cys-Gly-Cys [23]. Inicialmente, se preparó el derivado aminopirimidina a partir de estrona en cinco etapas de reacción (Esquema 5), después se llevó a cabo el acoplamiento con el tripéptido obteniendo el derivado fusionado.



a) 1. Boc-Cys(Bn)-OH, DCC, DCM; 2. TFA, DCM; b) Boc-Gly(Bn)-OH, DCC, DCM; 2. TFA, DCM;
 c) Boc-Cys(Bn)-OH, DCC, DCM

Esquema 5. Síntesis del péptido conjugado estra[17,16-*e*]piridina.

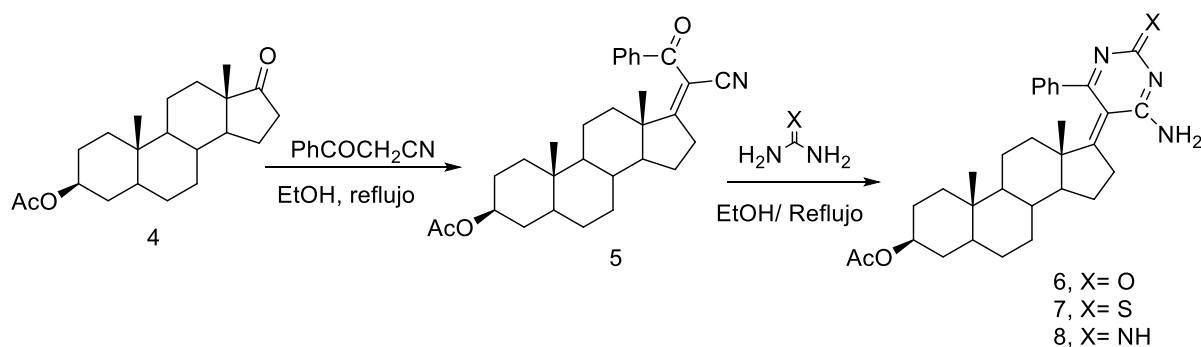
Elmegeed en el 2005 [34] reportó una metodología para la obtención de amino heterociclos esteroidales a partir 17 β -acetoxi-5 α -androstan-3-ona (**1**) con malononitrilo y azufre en una solución de EtOH/TEA obteniendo el compuesto **2**; el cual se hizo reaccionar con tiourea en presencia de NaOEt dando lugar al compuesto **3** (Esquema 3).



Esquema 6. Síntesis de aminoheterociclos.

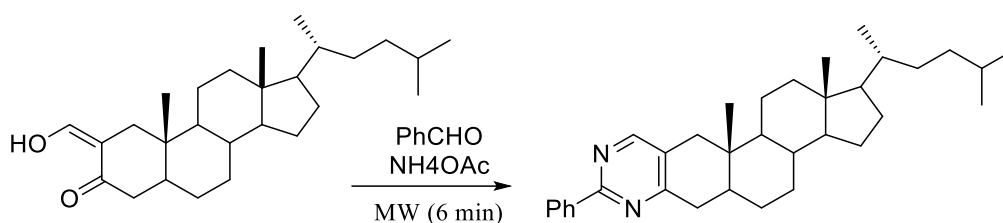
Por otro lado, se llevó a cabo una condensación de Knoevenagel (Esquema 4), utilizando acetato de *trans*-androsterona (4) con benzoato de cianometilo utilizando como disolvente etanol a reflujo, obteniendo el compuesto 5.

Finalmente, se llevó a cabo una cicloadición con diferentes binucleófilos en una solución etanólica de acetato de sodio, para generar los correspondientes derivados (6, 7, 8).



Esquema 7. Síntesis de aminoheterociclos.

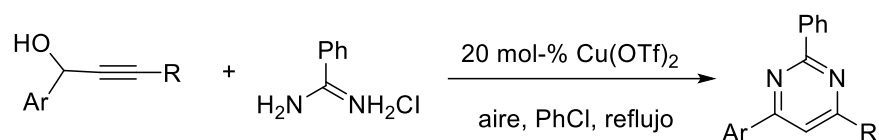
En el 2009 el grupo de investigación de Barthakur describe la preparación de pirimidinas fusionadas con el anillo A en la posición 2,3-esteroidal; los cuales fueron preparados a partir de la reacción en fase sólida de tres componentes de 2-hidroximetilen-3-ceto, arilaldehídos y acetato de amonio bajo irradiación de microondas [35].



Esquema 8. Síntesis de pirimidinas bajo irradiación de microondas.

3.4 Síntesis de pirimidinas no estroidales

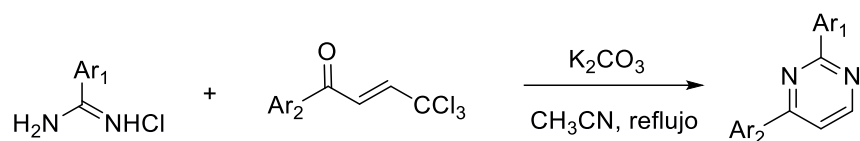
En los últimos años, se han descrito varias metodologías que implican la condensación de amidinas con precursores reducidos de compuestos de 1,3-dicarbonilo en condiciones oxidativas. Tales enfoques evitan la necesidad de una preparación específica del sustrato de 1,3-dicarbonilo o cetonas generalmente más accesibles. Zhan informó sobre la condensación catalizada por cobre entre benzamidina y alcohol propargílico en 2011 [36]. La sustitución nucleofílica directa del alcohol propargílico por la amidina, seguida de la ciclación de 6-endo, primero proporciona una 3,4-dihidropirimidina. Posteriormente, una oxidación proporciona la pirimidina correspondiente (Esquema 9). Las pirimidinas 2,4-disustituidas y 2,4,6-trisustituidas se obtienen en buenos rendimientos a partir de diversos alcoholes propargílicos aromáticos de partida. En contraste, un alcohol propargílico alifático no pudo reaccionar bajo estas condiciones.



R= H, TMS, n-Bu, 1-ciclohexil, Ph

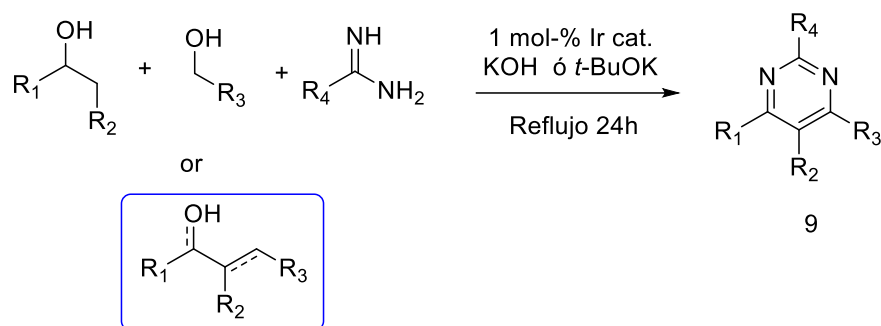
Esquema 9. Síntesis tres componentes de 4-amino-5-cianopirimidinas.

En 2015, Cho y colaboradores [37] reportaron la síntesis de pirimidinas 2,4-disustituidas en rendimientos moderados en una sola etapa, mediante la condensación de amidinas y cetonas α,β -insaturadas- β -triclorometil sustituidas, utilizando K_2CO_3 en acetonitrilo. El grupo triclorometilo actúa como un eficiente grupo activador.



Esquema 10. Síntesis de pirazolininas a partir de cetonas α,β -insaturadas.

El descubrimiento de nuevas metodologías para la síntesis de esqueletos heterociclos representa un área interesante y amplia de la síntesis orgánica. Un gran avance fue reportado por Kempe en el 2015, la cual reporta la síntesis de pirimidinas en condiciones de catálisis de iridio (Esquema 7), mediante una condensación de tres componentes con alcoholes primarios y secundarios y amidina. La reacción se origina a través de una condensación aldólica mediada por la base y la correspondiente amidina, generando el compuesto **9**. Esta metodología es utilizada para la síntesis de pirimidinas 2,4,6-trisustituidas y 2,4,5,6-tetrasustituidas en buenos rendimientos [38].

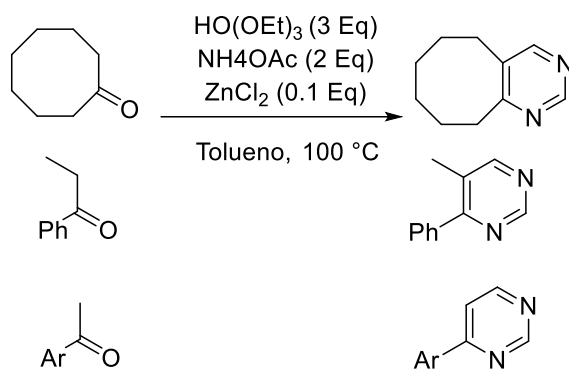


Esquema 11. Síntesis de Kempe de tres componentes.

3.5 Obtención de compuestos pirimidínicos mediante una reacción multicomponente: *one-pot*.

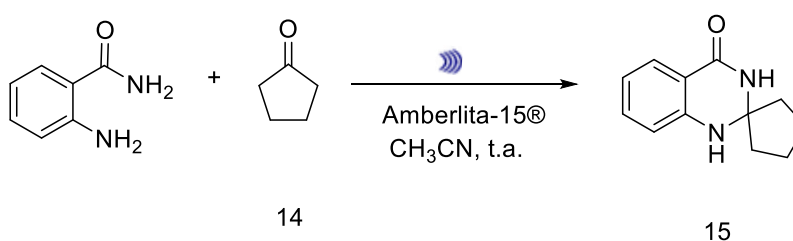
Las reacciones en las que participan múltiples componentes, cumplen con todos estos criterios y juegan un papel innovador en la síntesis orgánica, dentro de la síntesis orgánica idealmente se deben obtener las moléculas biológicamente activas, a partir de precursores fácilmente accesibles y baratos, de esta manera conseguir menor tiempo, disminuyendo considerablemente el número de etapas de reacción. Las reacciones multicomponente, se definen como un proceso para ensamblar en una sola etapa, al menos tres reactivos, los cuales participaran en la formación del producto final, a este proceso que se denomina reacción *one-pot* [39].

Sasada reportó en el 2009 [40] la síntesis de pirimidinas mono y disustituidas utilizando derivados carbonilo de cetona y enaminas, mediante una reacción de acoplamiento de tres componentes, catalizada por ZnCl_2 que involucra ortoformiato de trietilo y acetato de amonio, lo que conduce a la producción de derivados de pirimidina 4,5-disustituidos en un solo paso como se muestra en el Esquema 12.



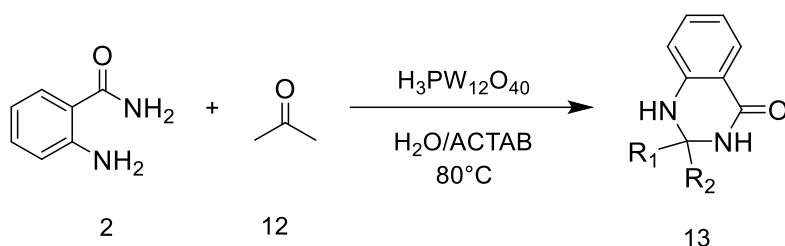
Esquema 12. Síntesis de pirimidinas mediante reacción *one-pot*.

Manojit Pal *et al.* [42] reportaron la síntesis de formación de espiroquinazolinas, utilizando irradiación de ultrasonido y como catalizador Amberlita-15®. En la que consiste la utilización de 2-aminobenzamida comercial (2), la cual se hizo reaccionar con ciclopentanona (14, Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis de espiroquinazolinas.

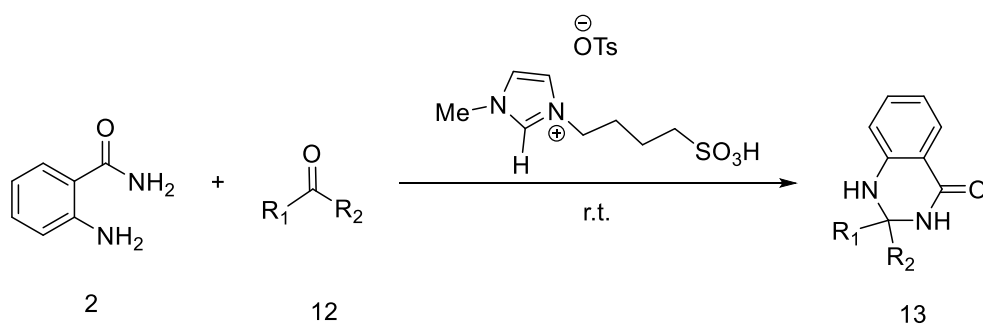
El grupo de investigación de Tajbalkhsh *et al.* [43] diseñó una nueva ruta catalítica para la obtención de dihidroquinazolinas, con buenos rendimientos y en tiempos cortos de reacción, la cual consistió en una ciclocondensación de 2-aminobenzamida 2 cetonas alifáticas (12), empleando como catalizador ácido fosfotúngstico (H₃PW₁₂O₄₀) en un medio acuoso (Esquema 14).



Esquema 14. Obtención de espiro 2,3-dihidroquinazolin-4(1H)-onas empleando ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$)

Los sistemas espirociclos son de considerable importancia debido a su presencia en varios productos naturales y compuestos farmacológicamente activos; los cuales podrían usarse para el descubrimiento de nuevos fármacos.

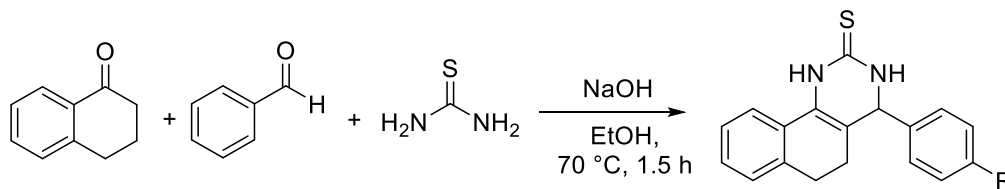
Das y colaboradores reportaron en el 2017 una biblioteca de quinazalin-4(1H)-onas a partir de cetonas fácilmente disponibles y 2-aminobenzamidas [44], empleando diversas estructuras de ILs (Líquidos iónicos) a base de imidazol, sales zwitterionicas y BAILs (Ácido liquido iónico de Brönsted), como se muestra en el esquema 15.



Esquema 15. Obtención de espiro-quinazolinas a partir de una reacción *one-pot*.

Recientemente Sivakumar y colaboradores [45] reportaron la síntesis de derivados 3,4,5,6-tetrahidro-4-sustituido-benzo[h]quinazolin-2(1H)-tionas mediante una reacción *one-pot* (Esquema 16) de tipo Billinelli-like de tres componentes; el cual

involucra una reacción de condensación entre una cetona y un aldehído de arilo; siendo el paso limitante de la primera reacción la eliminación del grupo hidroxilo intermediario, posteriormente se lleva a cabo una reacción de adición nucleofílica por parte de la tiourea, seguida de una deshidratación en presencia de hidróxido de sodio, obteniendo el producto deseado en buenos rendimientos (73-85 %).



Esquema 16. Síntesis de derivados 3,4,5,6-tetrahidro-4-sustituido-benzo[h]quinazolin-2(1H)-tionas

En el 2019 Monier describió pirimidinas esteroidales pentacíclicas; donde se reporta la síntesis de esteroides fusionados en los anillos A, B o D del esqueleto esteroide, síntesis de pirimidinas de tipo binario, óxidos de pirimidinas, macromoléculas y pirimidinas ligadas a esteroides mono, di y tripéptidos [46]. Se destacó la importancia biológica de las pirimidinas esteroidales, presentando un potente efecto anticancerígeno, antioxidante, antibacterial, antialzheimer. Además, se examinaron algunos heterociclos para el análisis de ADN de unión y el análisis de expresión génica. De esta forma se concluyó que la incorporación de un andamio de pirimidina en el esqueleto básico del esteroide es crucial para obtener mejores actividades biológicas.

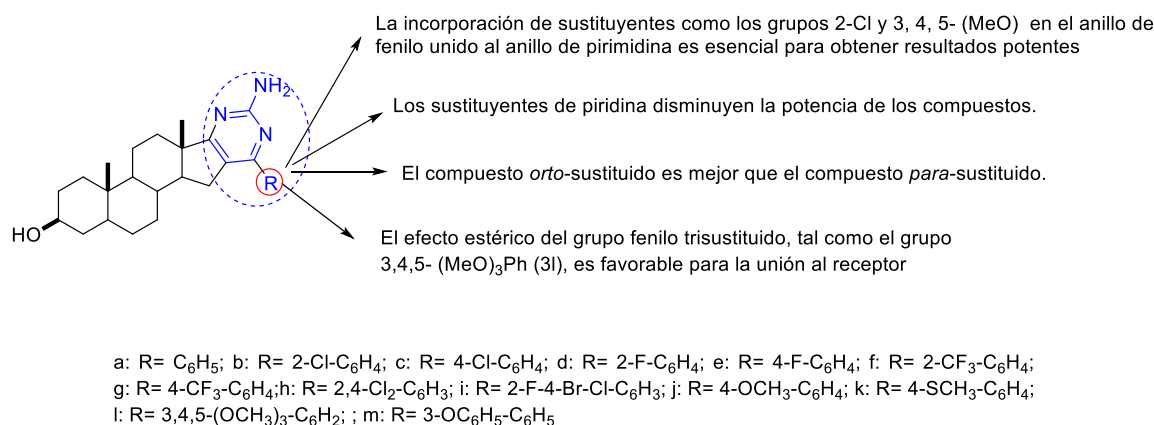


Figura 3. SAR de aminopirimidinaandrost-en-3β-ol como agentes anticancerígenos.

Teniendo en cuenta las importantes actividades biológicas que presentan este tipo de compuestos; consideramos de suma importancia la síntesis de derivados pirimidínicos fusionados o unidos al anillo D de diferentes núcleos esteroidales; así como su evaluación antiproliferativa.

Dos tipos diferentes de compuestos se sintetizaron como precursores de derivados de pirimidina esteroides (fusionadas y no fusionadas).

La síntesis de los compuestos de pirimidina esteroidales incluidos en este trabajo, se obtuvieron a través de una cicloadición entre una cetona α,β -insaturada como intermedios y un agente 1,3-binucleófilo.

En el escenario actual de síntesis orgánica, las reacciones multicomponentes (MCRs) están ganando popularidad debido a sus características como el método de un solo paso, los altos rendimientos, la simplicidad de manipulación y la síntesis dirigida en un tiempo mucho más corto, por lo que en este trabajo también fue posible la obtención de derivados pirimidínicos esteroidales mediante reacciones *one-pot*.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Diseñar rutas de síntesis para obtener nuevos derivados que contienen un heterociclo de pirimidina de tipo espiro, fusionados o no fusionados al anillo D o E de diferentes núcleos esteroidales.

4.2 Objetivos Particulares

- ✓ Optimizar algunas metodologías reportadas por nuestro grupo de trabajo sobre la apertura regioselectiva de sapogeninas y poder generar diversos intermediarios para la síntesis de nuevos heterociclos nitrogenados.
- ✓ Obtener nuevos derivados esteroidales tipo pirimidina.
- ✓ Caracterizar los productos obtenidos mediante métodos físicos y espectroscópicos.
- ✓ Proponer los mecanismos de reacción de los productos obtenidos.
- ✓ Determinar la actividad antiproliferativa de los compuestos pirimidínicos.
- ✓ Realizar *docking* molecular de los compuestos pirimidínicos.

5. Discusión de resultados

Con base en los antecedentes mencionados, y su importancia química, biológica y medicinal de los derivados pirimidínicos; nos interesamos en la síntesis de diferentes familias de derivados esteroidales conteniendo heterociclos pirimidínicos tipo espiro o fusionados al anillo D o E; empleando diversos sustratos.

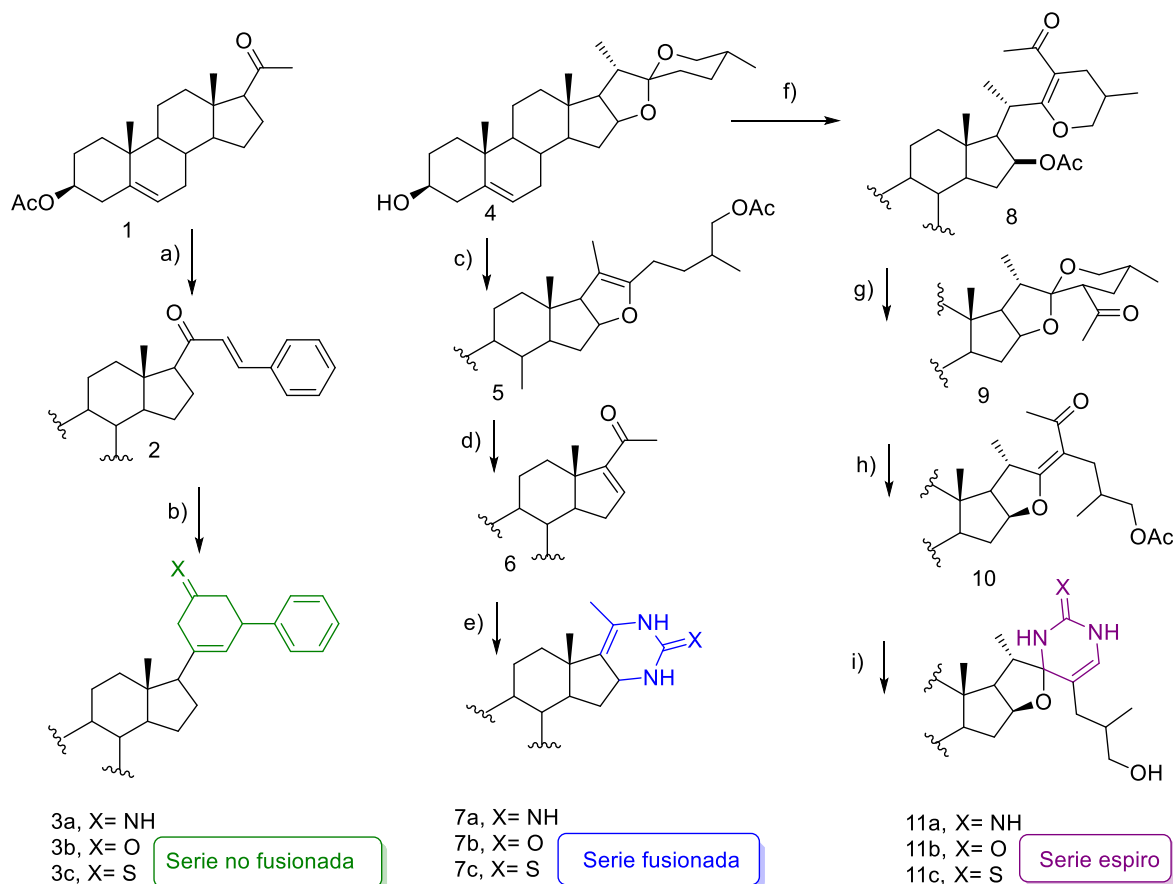
5.1 Síntesis de pirimidíneas esteroidales

5.1.1 Química

Un grupo de compuestos pirimidínicos esteroidales incluidos en este trabajo se sintetizaron mediante la reacción de cicloadición entre una cetona α,β -insaturada y un agente binucleófilico [39].

Para la obtención de esta familia de compuestos pirimidínicos se seleccionaron guanidina, urea y tiourea como agentes 1,3-binucleofílicos y dos estructuras de esteroide relacionadas para preparar dos series de pirimidíneas esteroidales: esteroides pirimidínicos fusionados y no fusionados. La ruta de síntesis se describe en el esquema 1. La síntesis de los esteroides pirimidínicos no fusionados (**3a-c**) se inició a partir de acetato de pregnenolona disponible comercialmente (**1**). El grupo acetato se hidrolizó en condiciones básicas estándar, *in situ* la cetona se transformó en la cetona α,β -insaturada (**2**) deseada, por medio de una condensación con benzaldehído en condiciones básicas [37]. Finalmente, se llevó a cabo la reacción de cicloadición de **2** con guanidina, urea o tiourea, respectivamente. Para la catálisis

básica se ensayaron soluciones etanólicas de KOH a diversas concentraciones, sin embargo; la reacción no procedió.



(a) PhCHO, KOH, EtOH, rt, 98%; (b) *t*-BuOK (THF 1M solución), BuOH, guanidina, urea, o tiourea, 56-68%; (c) BF₃·Et₂O, ATFAA, CH₂Cl₂, rt, 93%; (d) CrO₃, AcOH, DCM, H₂O, 0 °C rt, 82%; (e) KOH, EtOH, guanidina, urea, o tiourea, reflujo, 52-65%; (f) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 90%; (g) KOH/ MeOH 20%, rt, 98%, (h) Ac₂O, BF₃·Et₂O, rt, 85%, *t*-BuOK (THF 1M solución), BuOH, guanidina, urea, o tiourea, reflujo.

Esquema 17. Síntesis de pirimidinas fusionadas y no fusionadas.

Posteriormente, el cambio de las condiciones básicas a *t*-BuONa/BuOH proporcionó los esteroides pirimidínicos no fusionados (**3a-c**) con un rendimiento del 56-68%. Para lograr la síntesis de esteroides pirimidínicos fusionados **7a-c**, la diosgenina **4** disponible comercialmente se transformó en la pseudosapogenina **5** mediante una

apertura regioselectiva del anillo F [47]. Luego, la ruptura oxidativa del intermediario **5** produjo la cetona α,β -insaturada **6**. Finalmente, se colocó la cetona **6** a reflujo con guanidina, urea o tiourea, respectivamente, en una solución alcohólica de hidróxido de potasio, lo que condujo a los esteroides pirimidínicos fusionados **7a-c** en 52-65% de rendimiento.

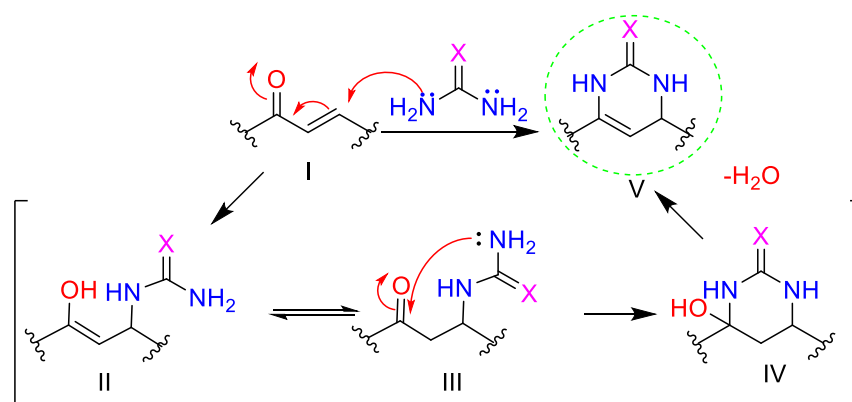
Para la síntesis de espiro pirimidinas nos basamos en la experiencia que tiene nuestro grupo de investigación, el cual ha trabajado en metodologías con reactivos fácilmente accesibles, en tiempos cortos de reacción y sobre todo, en condiciones de temperatura moderadas para llevar a cabo la modificación de la cadena lateral de diosgenina. La reacción de acetólisis de diosgenina (**4**) generó el derivado 22,26-epoxicolest-22-eno (**8**) como un producto principal, seguido de una hidrólisis básica proporcionó el compuesto 23-acetildiosgenina (**9**), el cual se trató con Ac_2O y $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ para formar el compuesto furosténico deseado (**10**) en un rendimiento cuantitativo. Posteriormente, se llevó a cabo la reacción de cicloadición de **10** con guanidina, urea o tiourea, respectivamente.

La tabla 1 resume los resultados de la reacción de cicloadición de las cetonas α,β -insaturadas **2** y **6**. Los tiempos de reacción estuvieron en un intervalo de 7-14 h, mientras que los rendimientos fueron moderados y variaron de 52-68%. Estos resultados señalaron que la reactividad del 1,3-binucleofilo no se vio afectada por la electronegatividad del heteroátomo exocíclico.

Tabla 1. Resultado de la reacción de las cetonas **2** y **6**.

Serie	Compuesto	X	Tiempo (h)	Yield (%)
No-fusionada	26a	N	7	68
	26b	O	12	56
	26c	S	10	62
Fusionada	27a	N	9	58
	27b	O	14	52
	27c	S	8	65

Se propone un posible mecanismo del proceso en el esquema 18. Primero, el ataque del compuesto 1,3-binucleofico a la cetona α,β -insaturada **I**; a través de una reacción de Aza-Michael mediada por las condiciones básicas para producir el intermediario **II**. Posteriormente, un segundo ataque nucleofílico del otro átomo de nitrógeno al grupo carbonilo tautomérico **III** forma el intermediario heterociclo **IV** mediante una de ciclación intramolecular. Finalmente, la eliminación de H_2O produce el compuesto de pirimidina **V** [58].

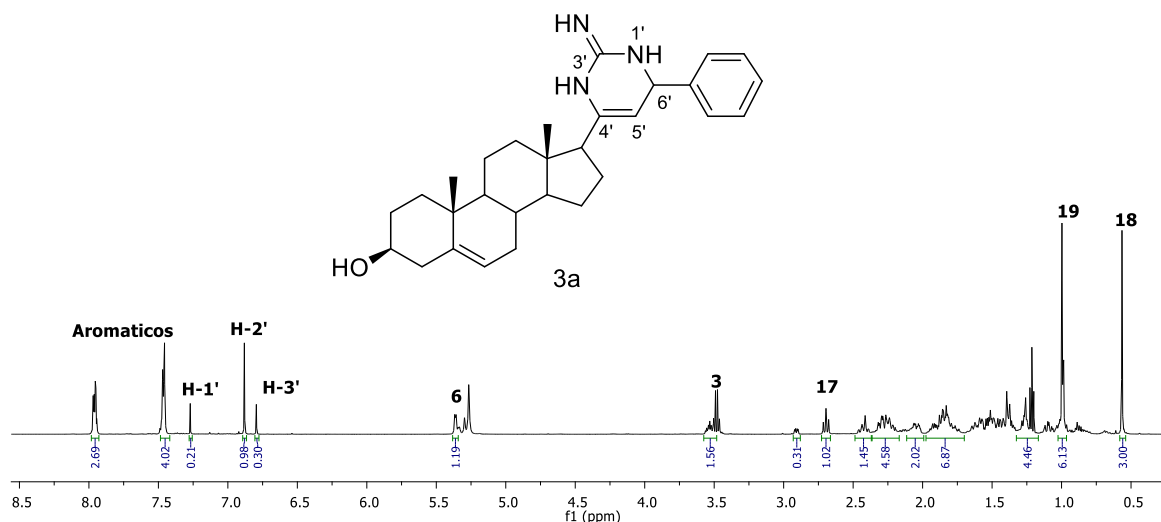


Esquema 18. Mecanismo de reacción general para la formación de pirimidinas esteroidales.

5.1.3 Caracterización de los compuestos pirimidínicos no fusionados

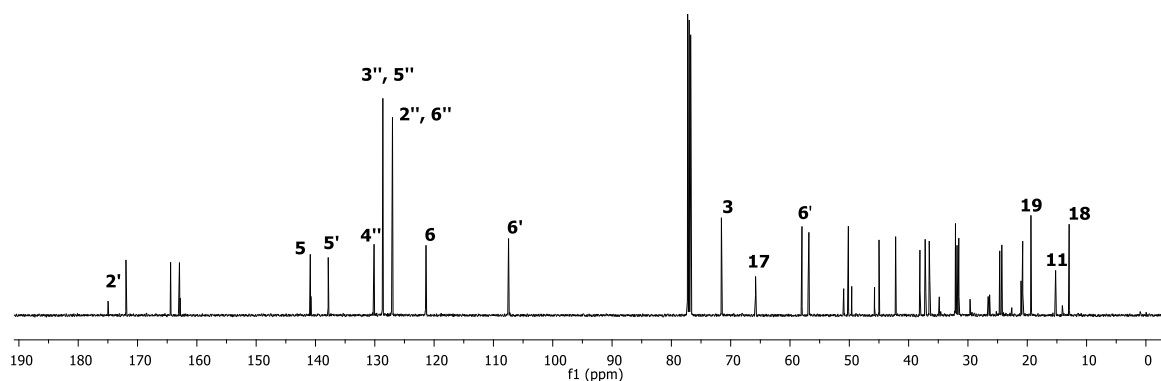
Para la obtención de los compuestos pirimidínicos no fusionados se añadió el correspondiente 1,3-binucleófilo (tiourea, urea, clorhidrato de guanidina) en butanol seco y una solución de *t*-BuOK.

En el espectro de RMN ^1H se observan señales que confirman la estructura del compuesto **3a**, CH_3 -18 y CH_3 -19 en 0.55 y 0.98 ppm. El H-3 se observa como una señal múltiple en 5.35 ppm. En 5.27 y 6.59 ppm se observan dos nuevas señales simples que corresponden a los H-5' y H-6' confirmando la presencia del heterociclo, además se aprecian dos señales simples en 6.78 y 7.26 ppm, las cuales pertenecen a los protones N-H de 1' y 3', respectivamente. Finalmente, en 7.44, 7.46 y 7.95 ppm se observan como una señal múltiple correspondiente a los protones aromáticos H-3'', H-5'', H-2'' y H-6'', respectivamente.



Espectro 6. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **3a**.

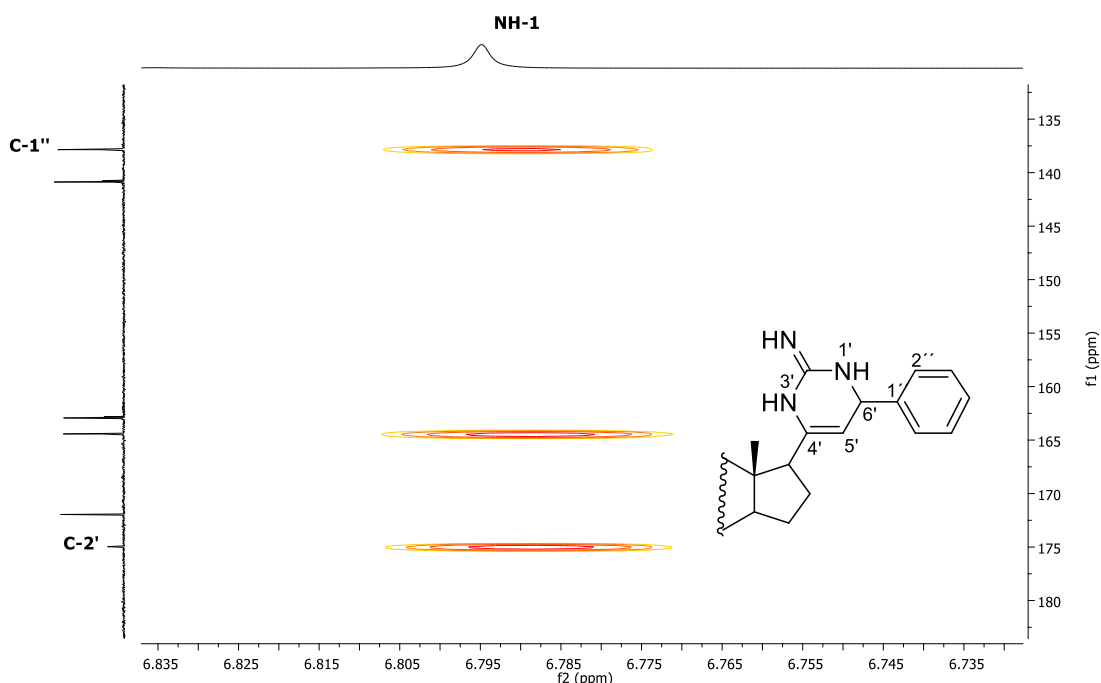
En el espectro de ^{13}C de **3a**, observamos las señales características del heterociclo de pirimidina. En 58.3 ppm aparece el C-6', en 120.5 y 132.2 ppm se observan las señales correspondientes a los carbonos vinílicos C-4' y C-5', respectivamente. El C-2' se observa en 174.5 ppm. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.



Espectro 7. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **3a**.

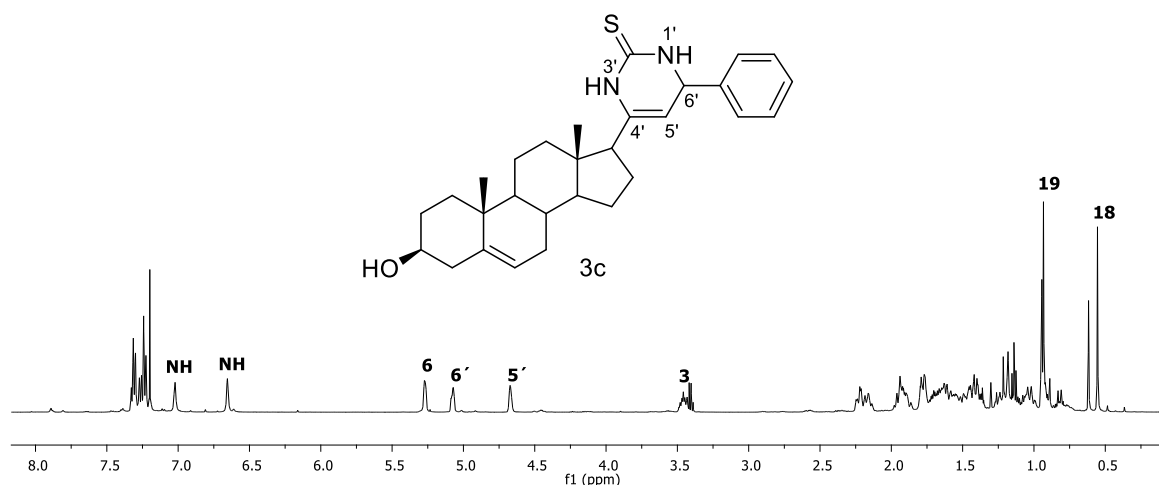
Los experimentos de 2D de RMN nos ayudan a asignar correctamente, por ejemplo, con el experimento HMBC logramos asignar correctamente NH-1, ya que se

correlaciona a dos enlaces con C-2', también logramos observar la correlación a 3 enlaces con C-1'' (carbono ipso).



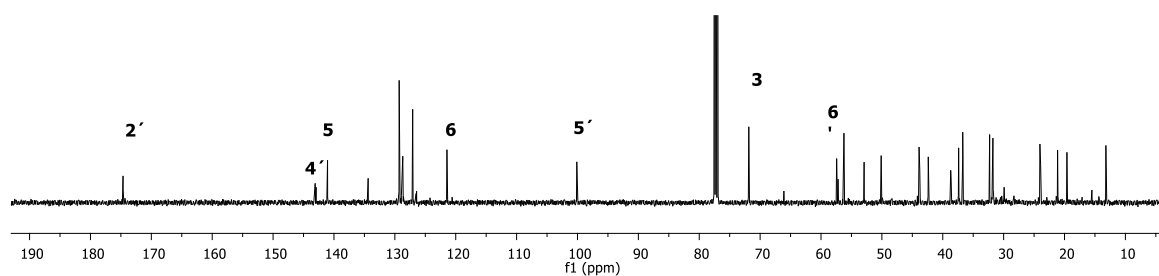
Espectro 8. Espectro 2D HMBC de compuesto **3a**.

En el espectro de RMN ^1H se observan señales que confirman la estructura del compuesto **3c**, $\text{CH}_3\text{-18}$ y $\text{CH}_3\text{-19}$ en 0.56 y 0.97 ppm. En 4.62 y 5.10 ppm se observan dos nuevas señales simples que corresponden a los H-5'y H-6' confirmando la presencia del heterociclo, además se aprecian dos señales simples en 6.63 y 7.00, las cuales pertenecen a los protones N-H de 1'y 3' respectivamente. Finalmente, en 7.25 ppm se observan una señal múltiple correspondiente a los protones aromáticos.



Espectro 9. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **3c**.

En el espectro de RMN ^{13}C de **3c**, podemos observar señales de la formación del heterociclo de pirimidina, en 56.9, 99.9, 134.2 y 174.3 ppm se encuentran las resonancias asignadas a los carbonos C-6', C-5', C-4' y C-2' respectivamente.

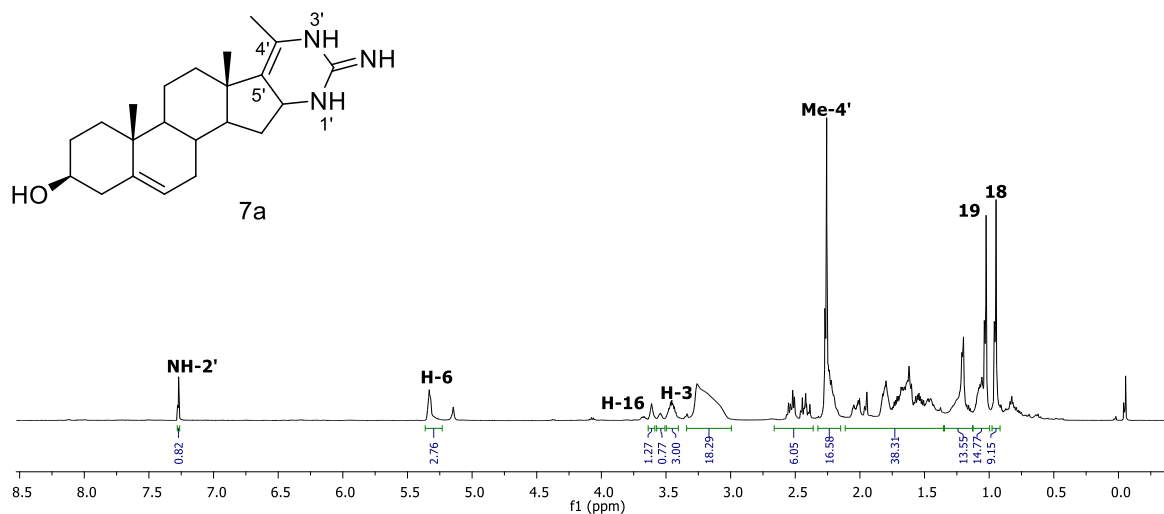


Espectro 10. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **3c**.

5.1.4 Caracterización de los compuestos pirimidínicos fusionados

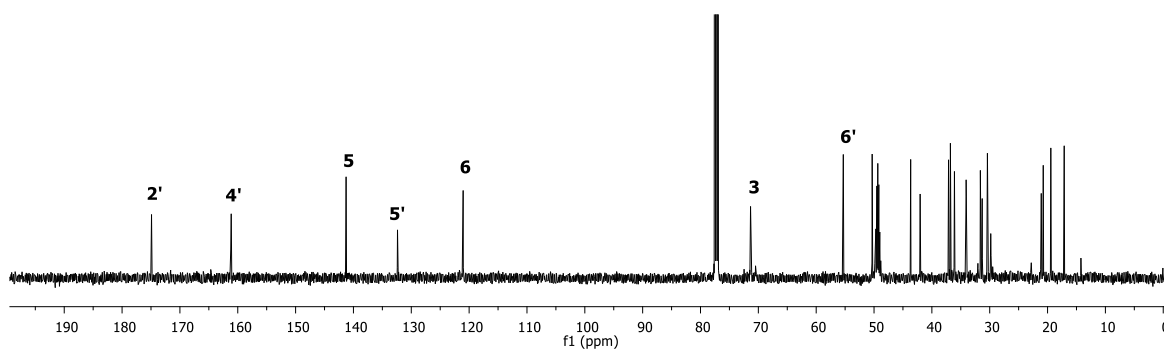
A continuación, se describe el espectro de RMN ^1H del compuesto **7a** en el que se observan señales de los CH_3 -18 y CH_3 -19 en 0.93 y 1.18 ppm, respectivamente, en 1.91 ppm se observa una señal simple correspondiente CH_3 -4'. La señal del H-3 se ubica en 3.46 ppm, el H-6' en 4.20 ppm como señal doble, en 5.28 aparece el H-6, por

último, se observan dos señales simples y anchas en 7.27 y 7.87 ppm correspondientes a H-1' y H-3' del nuevo heterociclo formado.



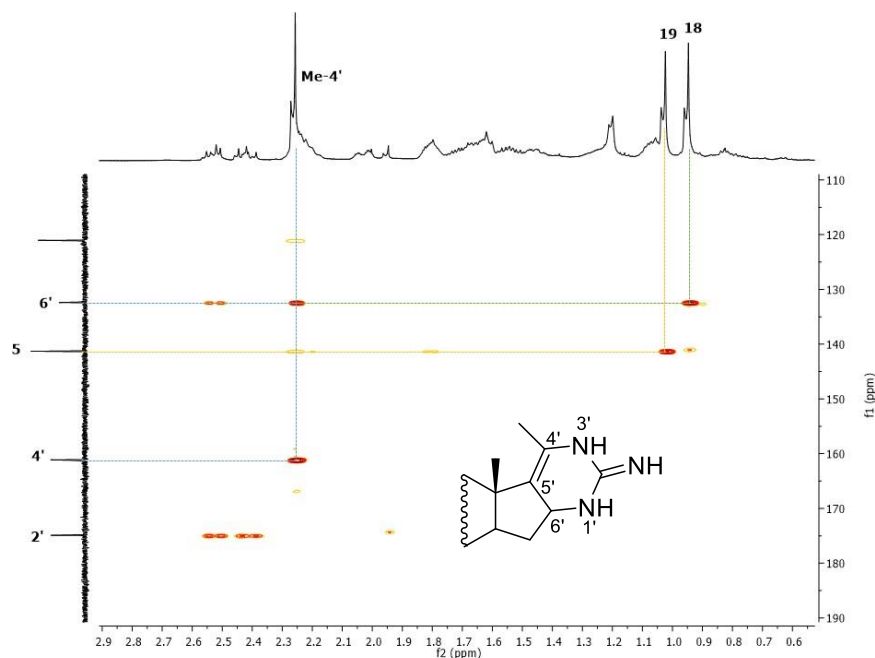
Espectro 11. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **7a**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **7a**, podemos observar las señales de los carbonos que forman el heterociclo de tetrahidropirimidína, se pueden apreciar las resonancias asignadas a los carbonos vinílicos en 132.4 y 161.2 ppm de C-5' y 4' respectivamente. En 174.5 se aprecia el C-2'.



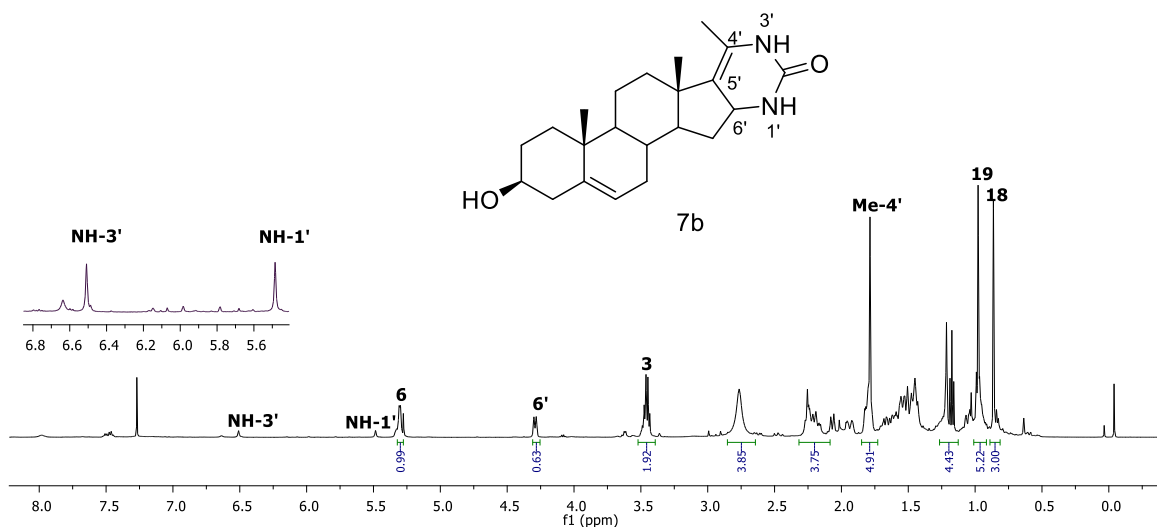
Espectro 12. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **7a**.

La asignación correcta de C-6' y C-4' se realizó con ayuda del experimento HMBC observando los acoplamientos con el CH₃-4'. Por otro lado, podemos observar la correlación que existe entre el CH₃-18 con C-6'.



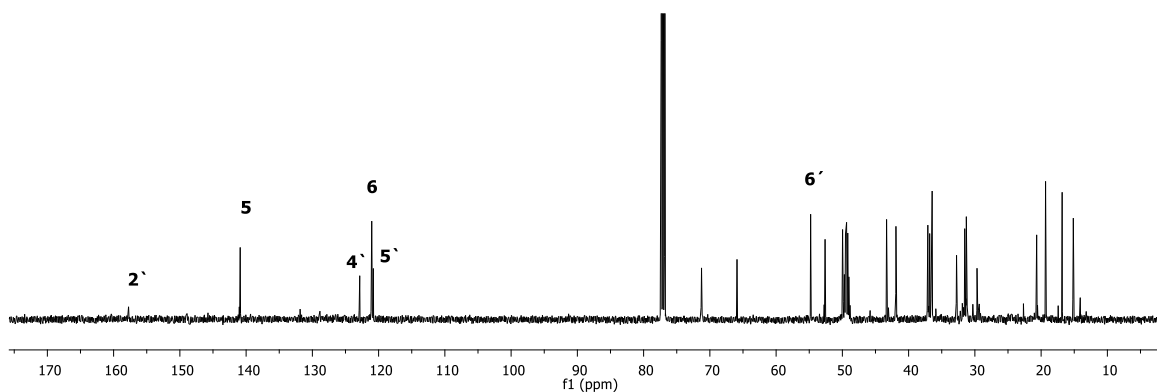
Espectro 13. Espectro 2D HMBC de compuesto **7a**.

En el espectro de RMN ¹H de **7b**, las señales simples de los CH₃-18 y CH₃-19 se observan en 0.85 y 0.97 ppm, en 1.78 ppm se aprecia una señal simple correspondiente al CH₃-4', el H-3 se encuentra en 3.45 ppm como una señal múltiple, una señal doble en 4.35 ppm asignada a H-16. En 5.35 ppm se encuentra una señal doble correspondiente al H-6, por último, observamos dos señales simples y anchas en 5.75 y 6.79 ppm asignadas a los NH-1' y NH-3'. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.



Espectro 14. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **7b**.

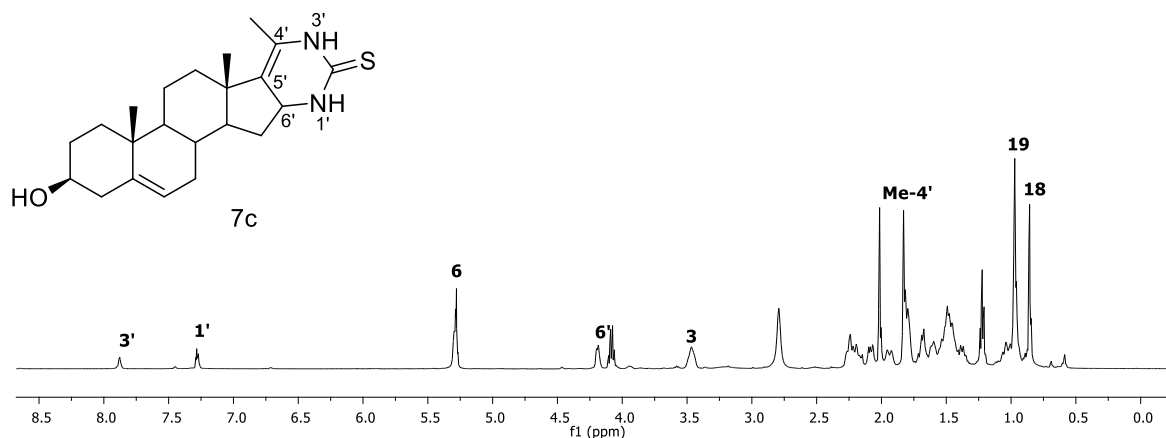
En el espectro de ^{13}C del compuesto **7b**, nos permitió identificar nuevas señales que forman el heterociclo, en 52.6 ppm se encuentra C-6', en 123.0 ppm se aprecia el carbono vinílico C-5'. El carbono C-4' se encuentra en 121.4 y C-2' se aprecia a 157.4 ppm.



Espectro 15. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **7b**.

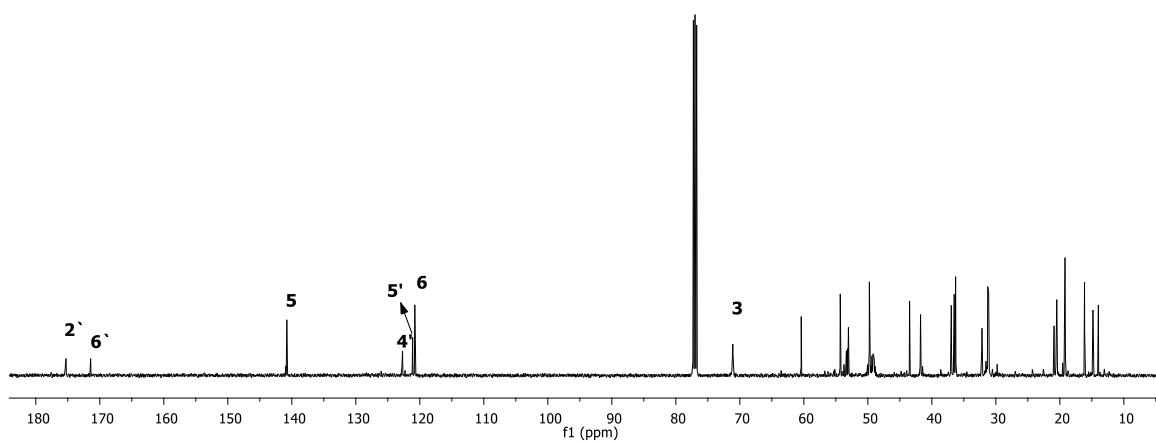
A continuación, se describe el espectro de RMN ^1H del compuesto **7c**, las señales de los CH_3 -18 y CH_3 -19 se encuentran 0.85 y 0.97 ppm, el H-3 se encuentra en 3.46 ppm.

El H-6' se observa en 4.20 ppm como señal doble, en 5.28 ppm se aprecia H-6. Finalmente, dos señales simples y anchas en 7.27 y 7.87 ppm correspondientes a H-1' y H-3' del nuevo heterociclo formado.



Espectro 16. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **7c**.

En el espectro de RMN ^{13}C de **7c**, podemos analizar nuevas señales de los carbonos que forman el heterociclo de tetrahidropirimidina, las cuales se aprecian en 176.2, 171.4, 122.6 y 121.5 ppm asignados a los carbonos C-2', C-6', C-5' y C-4' respectivamente.



Espectro 17. Espectro RMN ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **7c**.

5.1.5 Compuestos pirimidínicos espiroestánicos

Con respecto a la familia de la serie espiro se llevó a cabo la cicloadición con los diferentes binucleófilos (guanidina, urea, tiourea), para la catálisis básica se ensayó con soluciones etanólicas de KOH a diferentes concentraciones, sin embargo la reacción no se llevó a cabo, por lo que se recurrió al uso de *t*-BuOK; observando la completa transformación de la materia prima, por lo cual es muy probable que el producto corresponda a las estructuras espiro **11a-c**; cuya caracterización completa no fue posible concluir debido a las condiciones de salud mundial que afectaron las actividades académicas.

5.2 Pruebas biológicas

5.2.1 Actividad antiproliferativa

Los fármacos contra el cáncer esteroideos abiraterona y galaterona también se probaron con fines de comparación. La tabla 2 muestra los resultados expresados en 50% de inhibición del crecimiento (IG₅₀). En general, todos los compuestos probados mostraron actividad antiproliferativa contra todas las líneas celulares del tumor y una buena selectividad hacia los fibroblastos humanos.

Tabla 2. Actividad antiproliferativa (IG₅₀) contra células de tumores sólidos humanos y fibroblastos humanos.

Compuesto	Línea celular					
	(origen)					
	A549 (pulmón)	HBL-100 (seno)	HeLa (cérvix)	T-47D (seno)	WiDr (colon)	BJ-hTERT (fibroblastos)
2	23±1.6	19±3.7	3.3±0.3	9.9±3.5	6.3±0.5	>100
3a	4.4±1.0	23±2.8	6.1±1.2	8.8±2.2	8.3±1.1	>100
3b	11±2.9	16±1.3	14±3.6	15±1.3	15±3.5	97±5.9
3c	7.7±1.0	45±7.9	11±1.5	13±2.3	9.2±1.6	>100
6	26±5.2	64±1.6	3.6±0.4	29±4.5	37±2.1	>100
7b	13±3.7	15±3.2	3.4±0.2	15±1.9	18±1.8	>100
7c	3.4±0.5	3.7±1.0	2.6±0.7	3.0±0.5	3.1±0.4	>100
Abiraterone	95±0.8	>100	7.9±0.5	24±4.5	42±7.7	4.5±1.0
Galeterone	3.9±1.3	10±0.9	5.3±0.4	2.1±0.1	2.7±0.2	5.0±1.3

^a Valores de IG₅₀ se dan en µM. La desviación estándar se calculó a partir de al menos dos experimentos independientes. Abiraterona y galeterona se utilizaron como medicamento de referencia. El compuesto **4a** no se probó debido a la mala solubilidad en condiciones de protocolo. Los valores en negrita representan los mejores datos antiproliferativos contra las líneas celulares tumorales (IG₅₀ < 10 µM).

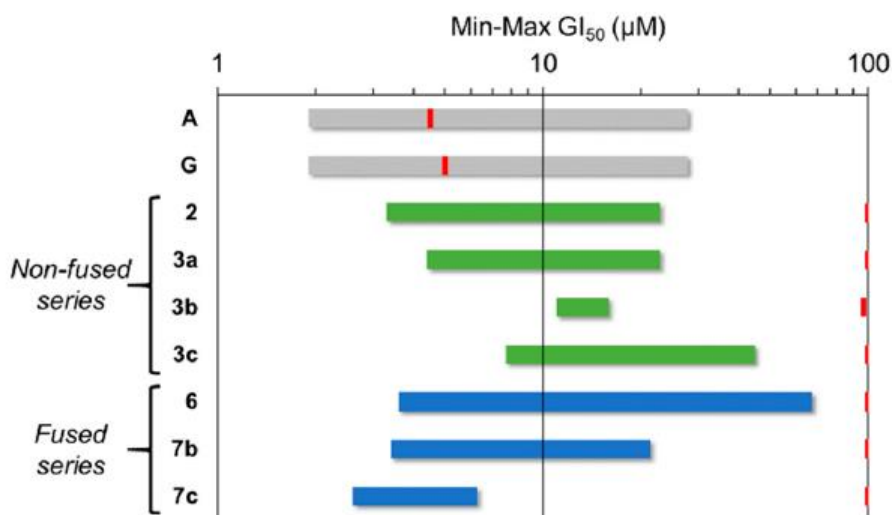


Figura 5. Gráfico de rango de IG₅₀ frente a líneas celulares de tumores sólidos humanos (A:Abiraterona, G: Galeterona, Gris); esteroides pirimidínicos no fusionados (verde); esteroides fusionados (azul) y IG₅₀ contra fibroblastos (rojo).

De acuerdo con los valores de IG₅₀ (Tabla 2) y la gráfica de rango de IG₅₀ (Figura 5), podemos inferir algunas relaciones actividad-estructura. El derivado de cetona α,β -insaturado **2** es más activo que sus derivados condensados **3a-c**. Especulamos que la presencia del doble enlace conjugado en **2**, favorece la actividad. Para las series no fusionadas, la tendencia de la actividad antiproliferativa con relación al heteroátomo es N (**3a**) > O (**3b**) > S (**3c**). Curiosamente, los efectos antiproliferativos observados para las series se desplazan en dirección opuesta

Por lo tanto, la cetona α,β -insaturada **6** es el compuesto menos activo y el heteroátomo exocíclico más favorecido es el de azufre (**7c** > **7b**). Por lo que el compuesto más activo contra todas las líneas celulares es el compuesto **7c**.

5.3 Formación de los derivados tipo pirimidina

Las estrategias de síntesis con respecto a cómo construir enlaces representan un tema central en la síntesis orgánica, debido al tremendo impacto de la industria química, la importancia en la reducción de costos, así como una disminución de tiempo. Las reacciones multicomponente forman una clase importante de reacciones que están relacionadas con las reacciones en tándem y que se pueden utilizar para generar vastas bibliotecas de compuestos con gran rapidez.

5.3.1 Química

5.3.1.1 Síntesis de compuestos espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona

El sistema de pirimidínico resultó ser un importante farmacóforo con importantes propiedades farmacológicas y su diversidad de actividades biológicas. En los últimos años ha surgido un creciente interés en la química de las quinazolininas [49a-e] ya que se encuentra presente como un compuesto básico en muchos productos naturales y sintéticos capaces de exhibir una amplia variedad de actividades biológicas [50].

Las DHQ-2 sustituidas se están convirtiendo en un intermediario sintético prometedor para los químicos orgánicos, por lo que se ensayó la reacción de ciclocondensación de tipo *one pot* entre la cetona en C-17 de *trans*-androsterona (**12**), *trans*-dehidroandrosterona (**13**) y estrona (**14**) con la 2-aminobenzamida (Esquema 19).

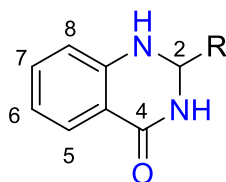
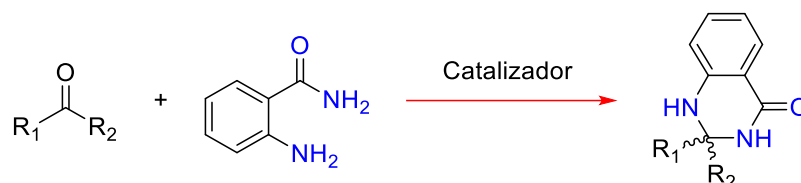


Figura 6. 2,3-Dihidroquinazolin-4(1H)-ona.

La reacción para la formación de este grupo farmacóforo, consisten en la reacción *one pot* entre una cetona con una aminoamida aromática y diferentes condiciones de reacción (Esquema 19).



Esquema 19. Reacción de ciclocondensación entre un aldehído o cetona y la 2-aminobenzamida.

En la literatura se ha descrito el uso de una gran diversidad de catalizadores para el tipo de reacción mostrada en el esquema 20, entre estos catalizadores se encuentran algunos ácidos de Lewis y ácidos de Brönsted-Lowry. En la tabla 3 se muestran los ácidos ensayados como catalizadores.

Tabla 3. Ácidos de Lewis y Brönsted-Lowry.

Ácido de Lewis	Ácido de Brönsted-Lowry
BF ₃ ·OEt ₂	Líquido Iónico Imidazolio
CeO ₂	<i>p</i> -toluensulfonato de piridinio
H ₃ BO ₃	Amberlita-15®

Se ensayaron diferentes metodologías en las que se modificaron catalizadores, disolventes y se incrementó las cantidades estequiométricas de los reactivos, así como el tiempo de reacción. En la tabla 4 se observan algunas condiciones ensayadas en las cuales no procedió la reacción.

Tabla 4. Condiciones de reacción la formación de espiroquinazolinas.

Ensayo	Catalizador	Equivalentes	Disolvente	Condiciones
1	H ₃ BO ₃	1	CH ₂ Cl ₂	t.a.
2	Amberlita-IR120	10% en peso	CH ₂ Cl ₂	Ultrasonido (t.a)
3	Amberlita-15®	10% en peso	CH ₃ CN	Ultrasonido (60° C)
4	Amberlita-15®	30% en peso	CH ₃ CN	Ultrasonido (60° C)
5	CeO ₂	2	CH ₂ Cl ₂	Reflujo
6	PPTS	2	CH ₂ Cl ₂	Reflujo
7	BF ₃ ·OEt ₂	1	CH ₂ Cl ₂	t.a.
8	BF ₃ ·OEt ₂	1	CH ₂ Cl ₂	Reflujo
9	BF ₃ ·OEt ₂	1	CH ₃ CN	Reflujo

10	BF ₃ ·OEt ₂	15	CH ₃ CN	Reflujo
----	-----------------------------------	----	--------------------	---------

El H₃BO₃ tiene valores de pka de 9.24, 12.74 y 13.80 y el *p*-toluensulfonato de piridinio tiene un pKa de 5.21, de acuerdo con estos valores se pueden considerar como ácidos débiles de acuerdo a la clasificación de Harris [55] quien considera que los ácidos débiles muestran pka en el intervalo de 4.74 y 9.31.

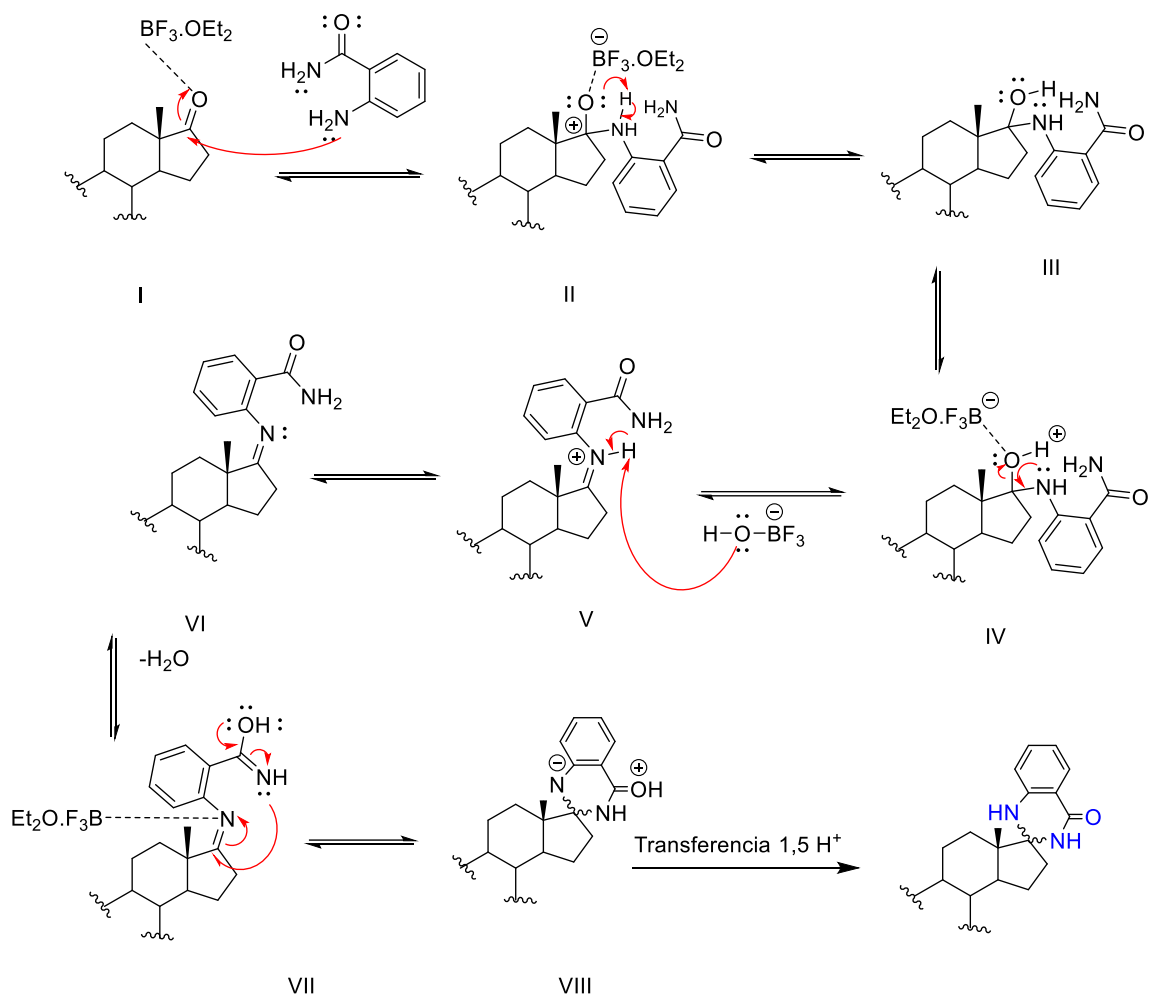
La amberlita-15® es una resina de intercambio catiónico, presenta grupos sulfónicos fuertemente ácido [57].

Se emplearon diferentes disolventes, inicialmente se empleó CH₂Cl₂, considerando que presenta un punto de ebullición de 40 °C la reacción no se llevó a cabo, por otro lado al CH₃CN y THF presentan un punto de ebullición más alto, se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que al incrementando un control termodinámico como medio de reacción, haciendo de esta manera que se efectuó la reacción de ciclación. En el caso del uso del BF₃·OEt₂ para catalizar esta reacción, ésta se efectuó de manera exitosa. Las mejores condiciones ensayadas se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Condiciones de reacción para la formación de espiroquinazolinas esteroideas.

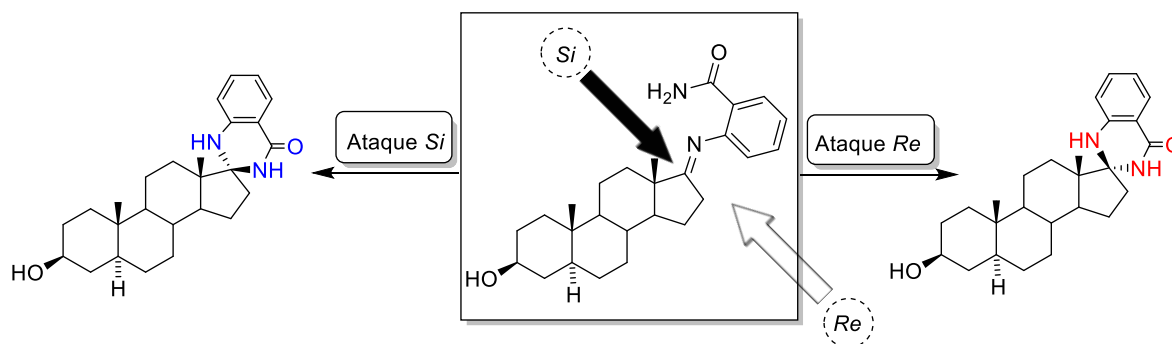
Ensayo	Compuesto	Catalizador	Disolvente	Eq	Tiempo de Rx	Rendimiento
1	15a	BF ₃ ·OEt ₂	CH ₃ CN	6	54 h	19%
	15b					20%
2	15a		CH ₃ CN	10	34 h	42%
	15b					48%
3	15b		THF	10	39 h	5%
			Anhidro			

Se propone un mecanismo para la formación de espiroquinazolinas esteroideas en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, el cual consiste en la activación del grupo carbonilo por parte del catalizador, a través de la formación de un enlace covalente coordinado, favoreciendo el ataque nucleofílico del nitrógeno de la amina (**I**), luego de una transferencia de protón se genera el intermediario **II**. por lo tanto, el N adquiere carga formal positiva haciendo que los H aumenten su carácter ácido, por lo que el par de electrones del O se neutraliza con el H ácido de la función amonio, generando un intercambio de protones (**II**), dejando el par electrónico sobre el N, formando el intermediario **III**. Posteriormente, hay una asistencia electrónica, del par electrónico del N hacia el carbono 17 (**IV**), posteriormente el O del hidroxitri fluoruro de boro extrae el H ácido del ion amonio (**V**) formando la imina y liberando H_2O (**VI**). La coordinación del catalizador con el N del grupo imina, atrae la densidad electrónica del carbono hacia el N, facilitando el ataque nucleofílico del N del aminol en **VI** promoviendo la ciclación para dar el intermediario **VIII**. La especie **VIII** sufre una transferencia 1,5 protones debido a la transposición sigmatrópica de Woodward-Hoffman [57].



Esquema 20. Mecanismo propuesto para la formación de espiroquinazolinas esteroidales.

Dependiendo del ataque nucleofílico a cada una de las caras del carbono sp^2 de la imina, es posible la formación de dos diastereoisómeros (Esquema 21).



Esquema 21. Ataque nucleofílico por la cara *Si* o por la cara *Re* de la *trans*-androsterona.

Se espera que el producto mayoritario sea el generado preferentemente a una de las caras diasterotópicas menos impedida generado por el metilo 18 en la cara *Si*, la reacción preferentemente ocurrirá por la otra cara. Obteniendo de esta manera la mezcla de epímeros se puede inferir que **15b** tiene configuración *R* y **15a** configuración *S*, los datos de la posible estereoquímica de los compuestos **15a** y **15b** fueron sustentados con los datos reportados por Fousteris [51, 57].

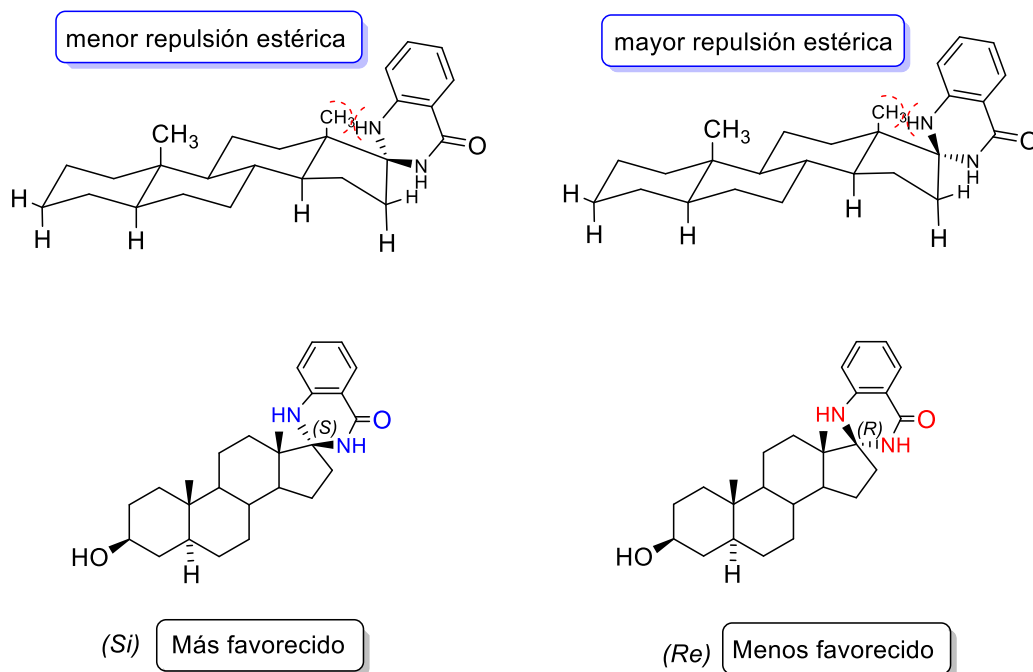


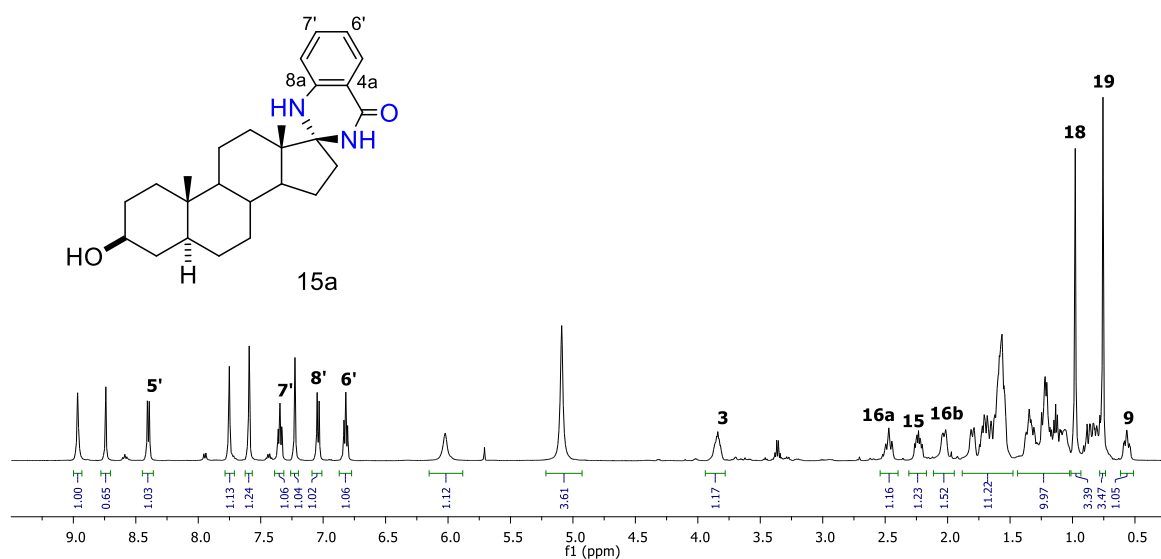
Figura 7. Formación de diastereoisómeros a partir de *trans*-androsterona.

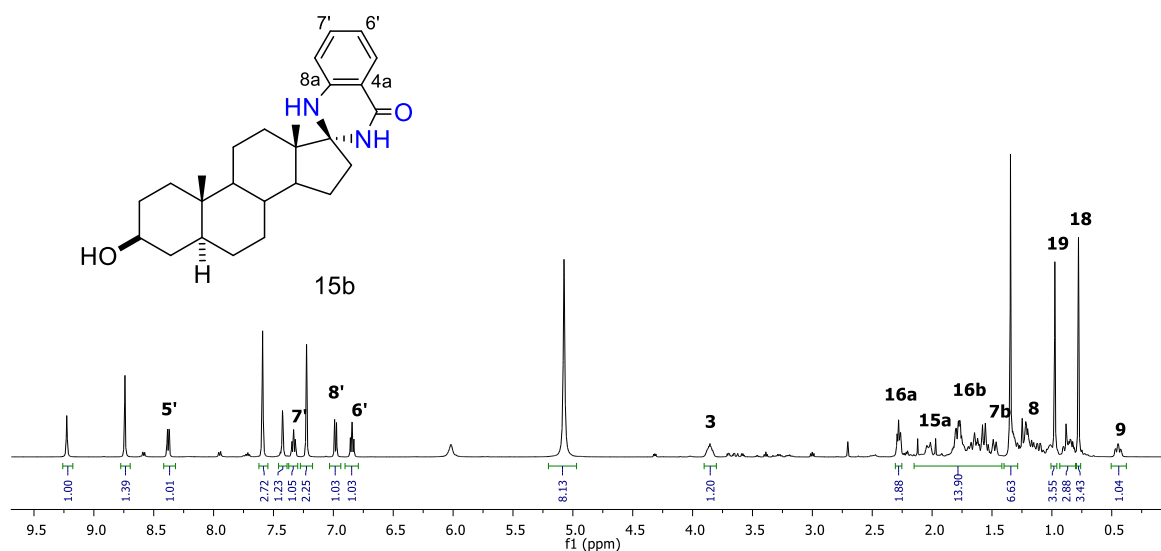
Otro catalizador empleado fue el uso del líquido iónico imidazolio (1-metil-3-(4'-sulfobutil)-imidazolio), previamente sintetizado; el cual es una sal iónica.

5.3.2 Caracterización del líquido iónico y compuestos espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona

A continuación, se describe el espectro de RMN ^1H de **15a**, en 8.39 ppm se observa una señal doble con $J=10$ Hz asignada al H-5'. En 7.36 ppm una señal doble de doble correspondiente al protón H-7', con constantes de acoplamiento $J_{7'-8'}=10$ Hz y $J_{7'-6'}=5$ Hz. El H-8' se presenta como una señal doble con una $J=10$ Hz en 7.05 ppm.

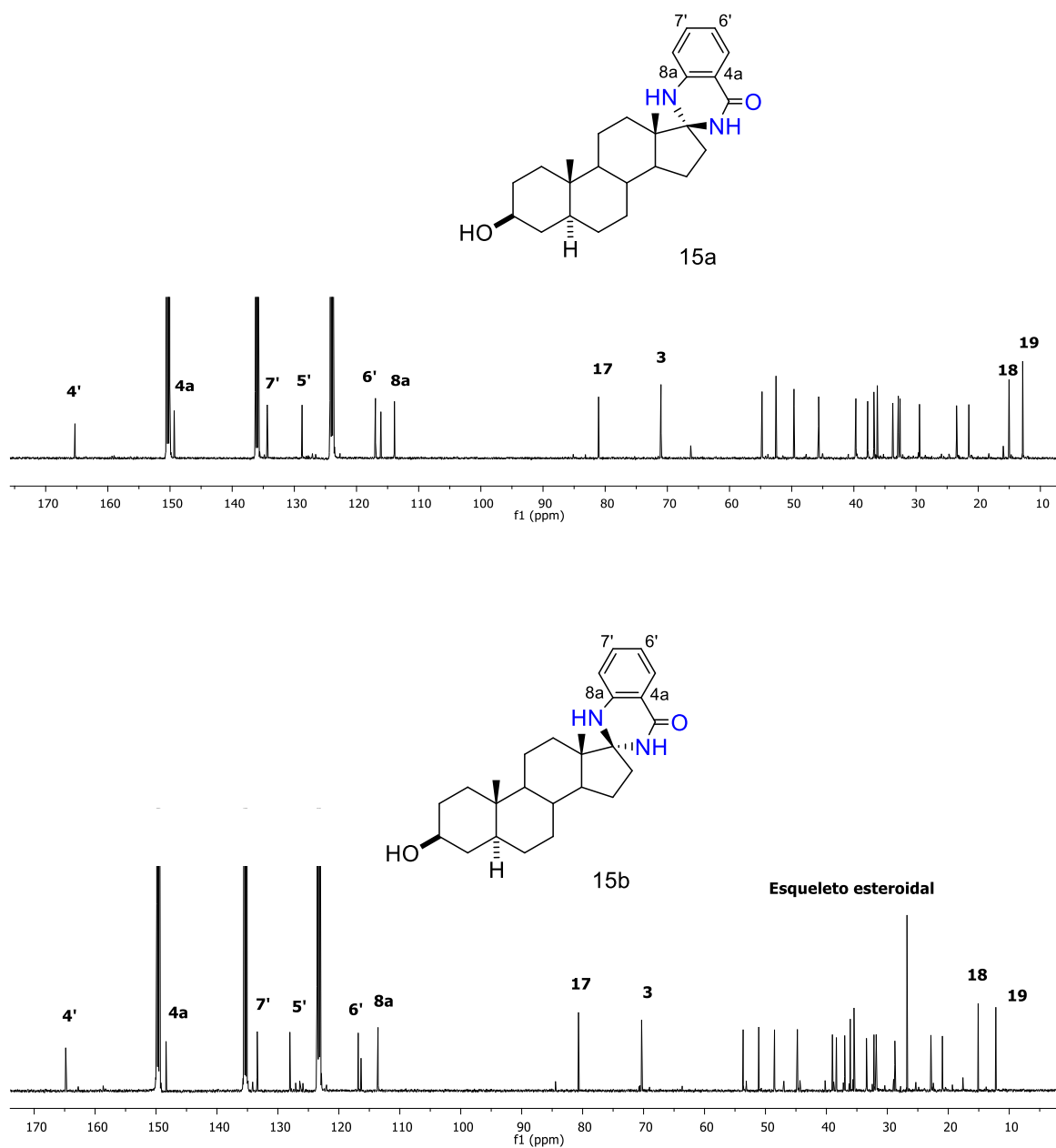
En 6.82 ppm se aprecia una señal dd perteneciente al H-6' con constantes de acoplamiento $J_{6'-5'}=10$ Hz y $J_{6'-7'}=5$ Hz. En 3.84 ppm se localiza una señal múltiple ancha para el protón base oxígeno H-3. En 0.98 y 0.75 ppm se encuentran las señales simples para los metilos 18 y 19 respectivamente. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.





Espectro 20. Espectro RMN ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) de compuesto **15a** y **15b**.

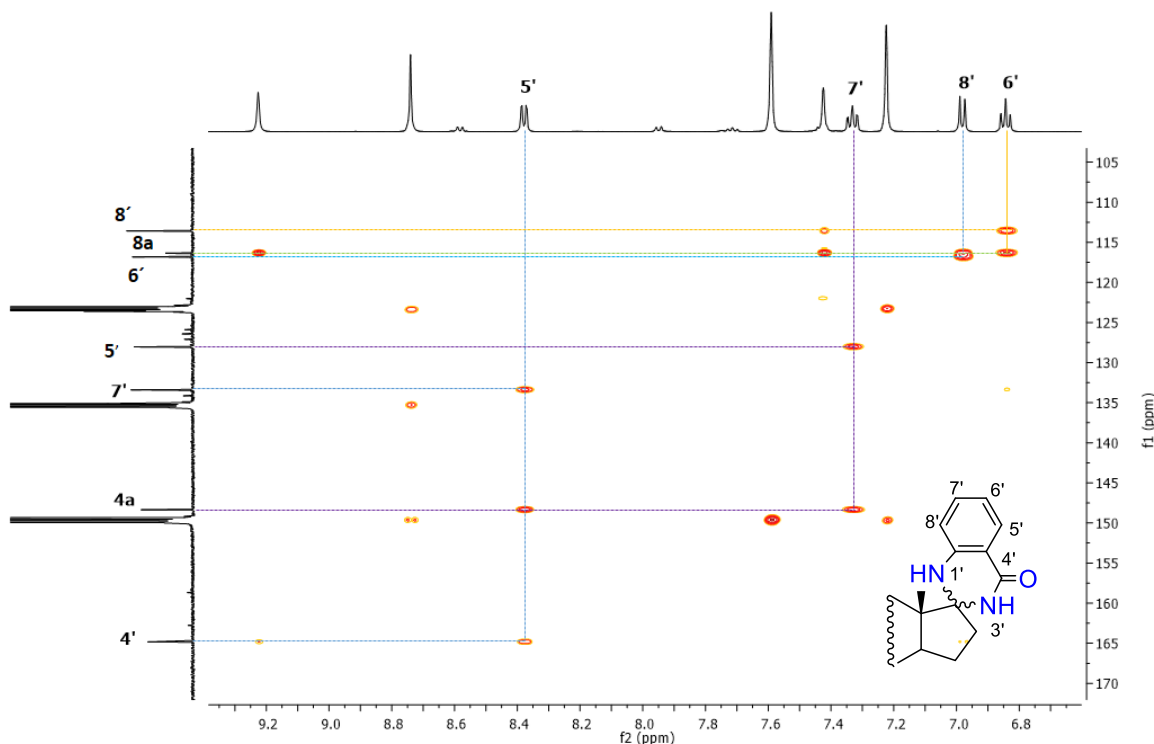
En los espectros de RMN de ^{13}C de los diastereoisómeros **15a** y **15b** se pueden observar los cambios más significativos que consisten en la presencia de nuevas señales correspondientes a la 2-aminobenzamida y el desplazamiento a frecuencias ligeramente bajas del carbono 17. A frecuencias altas se encuentra la presencia de una señal en 164.6 y 164.8 ppm correspondiente al carbono de carbonilo de amida. En el espectro podemos apreciar señales de doble enlace en 148.7 y 148.4 ppm correspondientes al carbono 4a y en 115.4, 116.4 ppm al C-8a. En 133.7, 128.1, 116.3, 113.2 ppm se encuentra la presencia del carbono C-7', C-8', C-5' y C-6' para ambos casos de los diastereoisómeros. El carbono espiro que se encuentra en 80.4 y 80.7 ppm.



Espectro 21. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, Piridina- d_5) de compuesto **15a** y **15b**.

En el espectro de 2D HMBC nos ayuda a asignar correctamente los carbonos del sistema quinazolin-4(1H)-ona, en donde podemos observar el acoplamiento de H-5' con los C-4', 4a, y C-7'. Observamos el acoplamiento de H-7' con 4a y 5'. Por otro

lado, observamos que H-6' se acopla con 8a y 8'. Finalmente encontramos la correlación de H-8' con C-7'.



Espectro 22. Espectro RMN 2D HMBC de compuesto **15a**.

Se realizó espectrometría de masas, ya que ayudó a determinar con precisión el pico ion molecular de cada diastereoisómero. A continuación, se muestra el espectro del compuesto **15a** y **15b** realizado mediante la técnica FAB en el que se observó $[M+Na]^+$ a $m/z = 407.3396$. Los compuestos separados **15a** y **15b**, presentan la misma fragmentación, obteniendo mismo pico ión molecular.

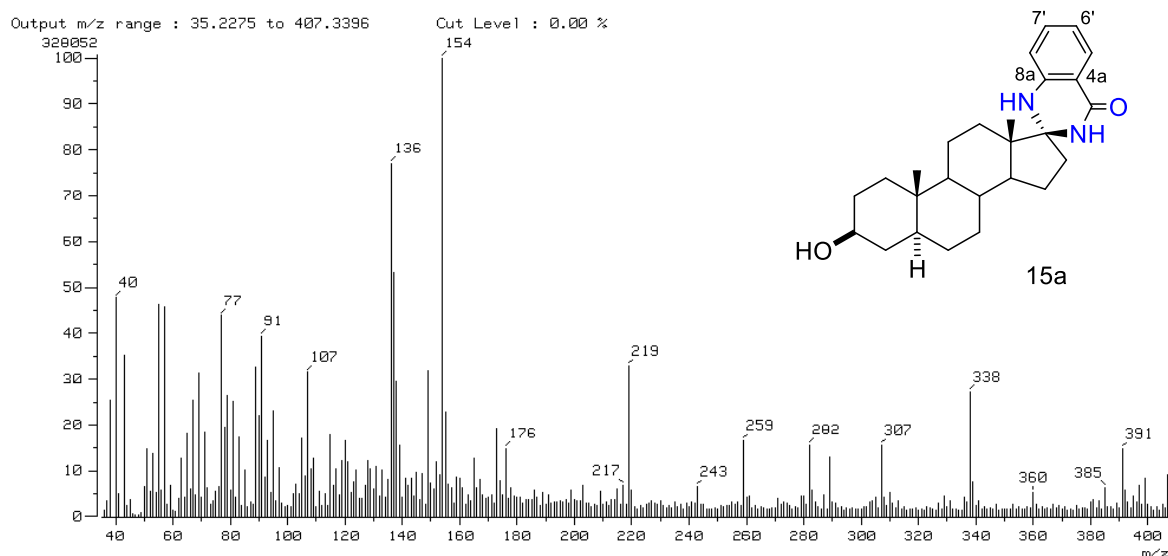


Figura 8. Espectro de masas de 15a.

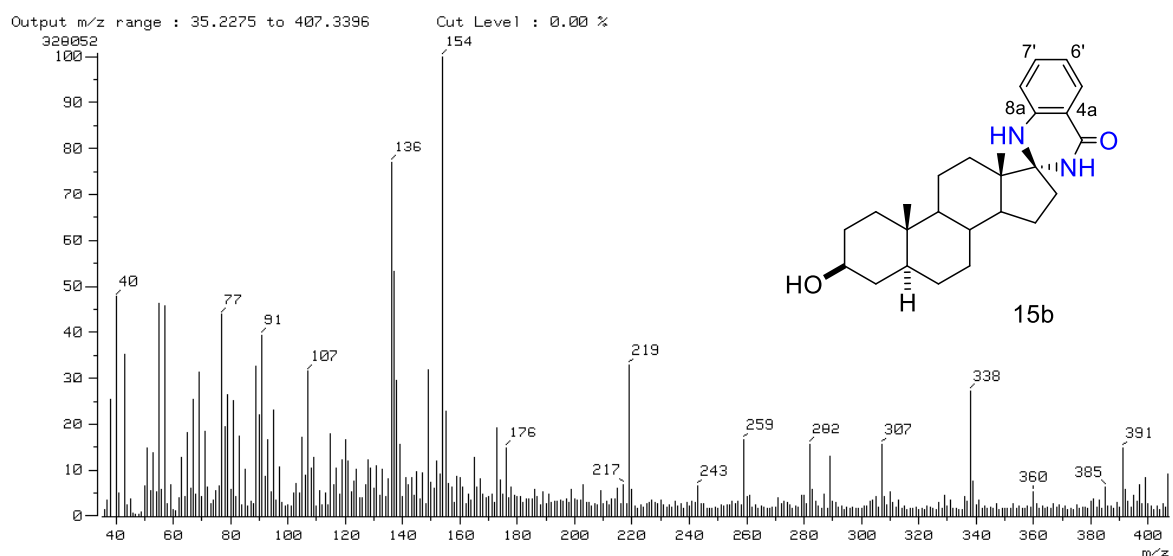


Figura 9 Espectro de masas de 15b.

5.3.3 Síntesis de espiroquinazolinas esteroideas a partir de estrona y *trans*-dehidroandrosterona.

La formación del derivado espiroquinazolina a partir de estrona y *trans*-dehidroandrosterona se emplearon como catalizadores el líquido iónico imidazolio (LI) y el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$.

En el caso de la *trans*-dehidroandrosterona, se obtuvo una mezcla de diastereoisómeros al igual que en caso de la *trans*-androsterona. Se realizaron ensayos mediante catálisis en medio ácido empleando $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y con LI, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Condiciones de reacción para la formación de espiroquinazolinas esteroideas.

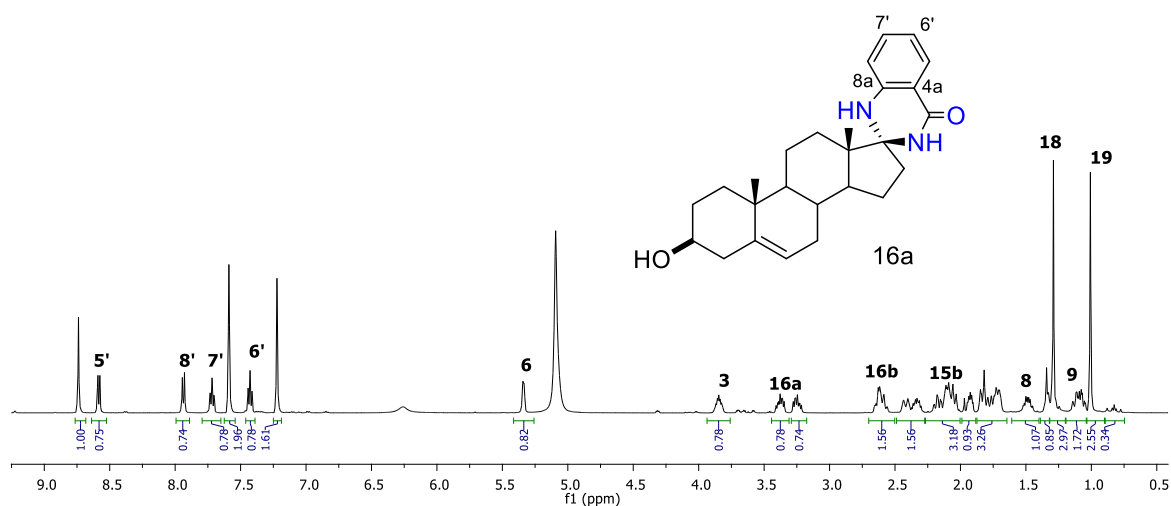
Ensayo	Compuest o	Catalizado r	Disolvente	Eq	Tiempo de Rx	Rendimiento
1	17	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	CH_3CN	10	30 h	37%
2	17	LI	CH_3CN	0.02 mol %	32h	29%
3	16a	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	CH_3CN	10	31	42%
	16b					44%
4	16a	LI	CH_3CN	0.02 mol %	20	25%
	16b					50%

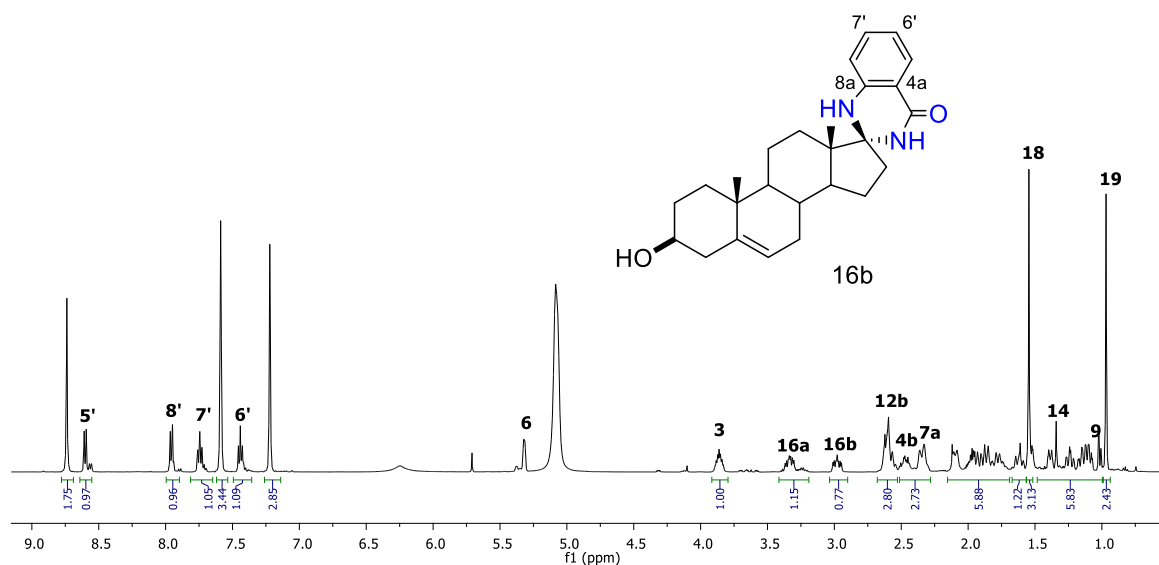
5.3.3.1 Caracterización de espiroquinazolinas esteroideas a partir de estrona y *trans*-dehidroandrosterona.

Se describe el espectro de RMN de ^1H de los diastereoisómeros **16a** y **16b**, en 8.59 ppm se identifica una señal doble con $J=5$ Hz asignada al H-5'. En 7.94 ppm una señal doble correspondiente al protón H-8' con una constante de acoplamiento $J_{8'-7'}=10$ Hz. El H-7' se presenta como una señal doble de doble con $J_{7'-8'} = 5$ Hz, $J_{7'-6'} = 10$ Hz en 7.73 ppm.

En 7.44 ppm, una señal dd perteneciente al H-6' con constantes de acoplamiento $J_{6'-5'} = 10$ Hz y $J_{6'-7'}=5$ Hz. En 3.84 ppm se localiza una señal múltiple ancha para el protón base oxígeno H-3. Los hidrógenos diasterotópicos 16a y 16b se observan en 3.38 y 3.25 ppm como una señal ddd con constantes de acoplamiento $J_{\text{H-H}} = 5$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 10$ Hz, $J_{\text{H-H}} = 15$ Hz, H-16a) para ambos hidrógenos.

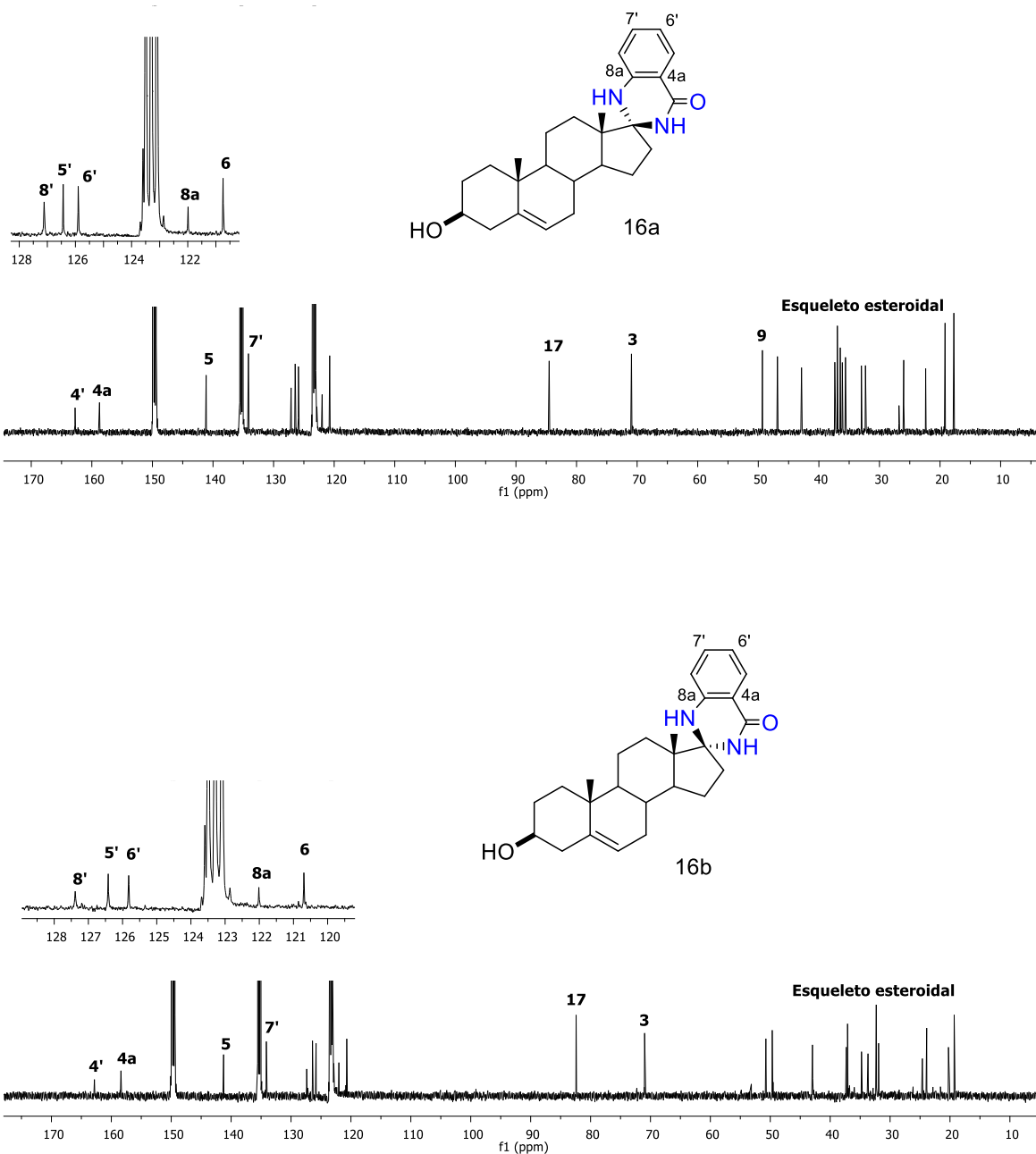
En 1.06 y 0.77 ppm se encuentran las señales simples para los metilos 18 y 19. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.





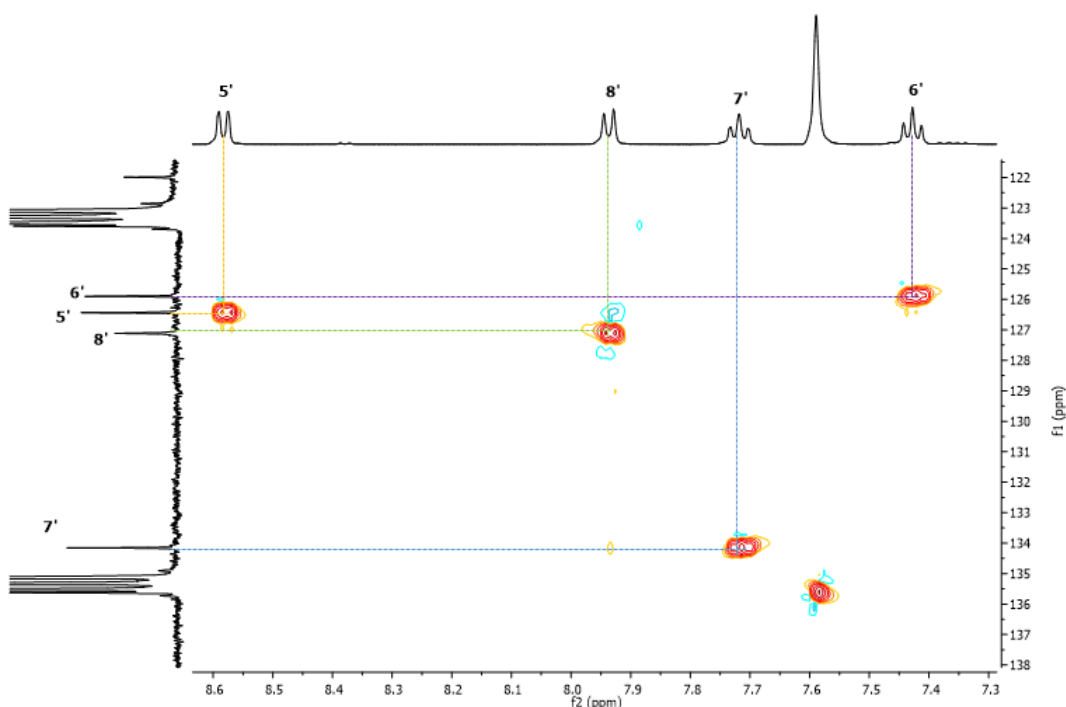
Espectro 23. Espectro RMN ^{13}C de compuesto 16a y 16b.

En el espectro de RMN de ^{13}C en 162.8 y 162.9 ppm se encuentra un carbonilo de amida. Las señales de los carbonos aromáticos por parte de 2-aminobenzamida se localizan en 134.2, 127.1, 126.4 y 125.9 ppm las cuales son asignadas a los C-7', C-8', C-5' y C-6'. También podemos observar la presencia de dos carbonos vinílicos en 158.4-7 y 122.0 que corresponden a C-4a y C-8a respectivamente. Un cambio significativo es el desplazamiento de C-17 (220 ppm) de ser un carbonilo de cetona sp^2 a uno carbono espiro (sp^3) en 84.5 y 82.4. Aproximadamente en 71.0 ppm se puede apreciar la señal de C-3. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.



Espectro 24. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, Piridina- d_5) de compuesto **16a** y **16b**.

El experimento de RMN de dos dimensiones HSQC nos permitió observar la correlación de los protones que se encuentran unidos directamente con su carbono del sistema quinazolin-4(1*H*)-ona.

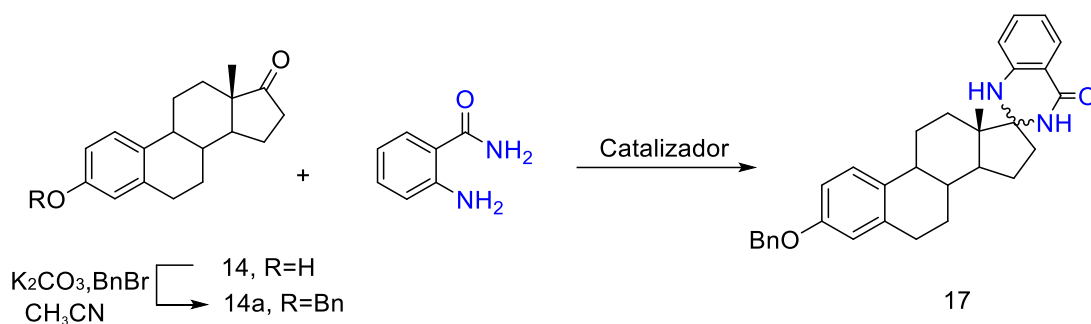


Espectro 25. Espectro RMN HSQC de compuesto **16a**.

Se realizaron los primeros ensayos para la formación de espiroquinazolin-4(1*H*)-ona a partir de estrona, se realizaron modificando diferentes metodologías reportadas en la literatura, sin embargo, la reacción no se efectuó de manera satisfactoria, por lo que se recurrió a la protección del grupo hidroxilo aromático, modificando la polaridad de la estrona. Debido a que el hidrogeno del anillo fenólico es muy ácido, el K_2CO_3 es suficientemente básico para extraer el protón y formar el fenolato, posteriormente se lleva a cabo reacción de sustitución nucleofílica con características S_N2 sobre el BnBr formando el derivado **14a**. La reacción de protección se obtiene en un rendimiento cuantitativo.

Las señales observadas en el espectro de RMN de ^1H corroboran la formación de **14a**, debido al efecto de anisotropía que ejercen los anillo aromático se observan a frecuencias altas señales múltiples (7.32-7.46 ppm) pertenecientes a los hidrógenos del anillo aromático y una señal en 5.05 ppm pertenecientes al metileno del bencilo. De la misma forma, el espectro de RMN ^{13}C se encuentran señales del grupo aromático de 127.5-137.3 ppm y la señal del metileno del bencilo se encuentra en 70.0 ppm. Los demás datos espectroscópicos se compararon con los reportados en la bibliografía [52].

Posteriormente se llevó a cabo la ciclocondensación entre el C-17 de la estrona bencilada (**14a**) y la 2-aminobenzamida para la síntesis del derivado espiroquinazolina (**17**) (Esquema 23).

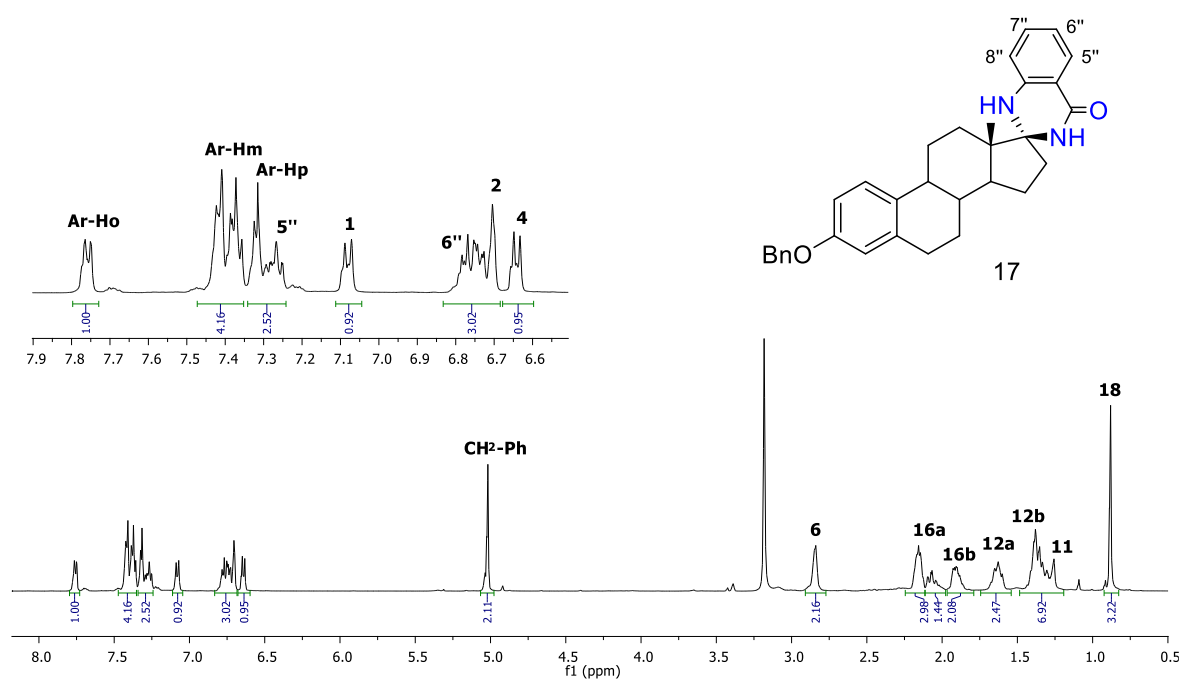


Esquema 23. Obtención del derivado espiroquinazolina (**17**) a partir de estrona bencilada (**14a**) mediante la reacción *one-pot*.

La formación de espiroquinazolinas a partir de estrona únicamente se obtuvo un producto en ambos casos, utilizando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ó LiI . La reacción se realizó a través de una catálisis en medio ácido empleando $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ el ataque nucleofílico se ve favorecido en la cara menos impedida (cara *Re*), en cambio en la catálisis con LiI el ataque nucleofílico se prevé a través de la cara *Si* del grupo imina, esto es debido a que el anión tiene un volumen muy grande por ende tiene la

capacidad de bloquear la cara menos impedida y eso favorece el ataque nucleofílico por parte del N de la amida a través de la cara *Si* del grupo imina [57]. En este caso solo fue posible la caracterización del compuesto **17**, ya que su diasteroisomero se encontró en muy bajo rendimiento y no fue posible su caracterización.

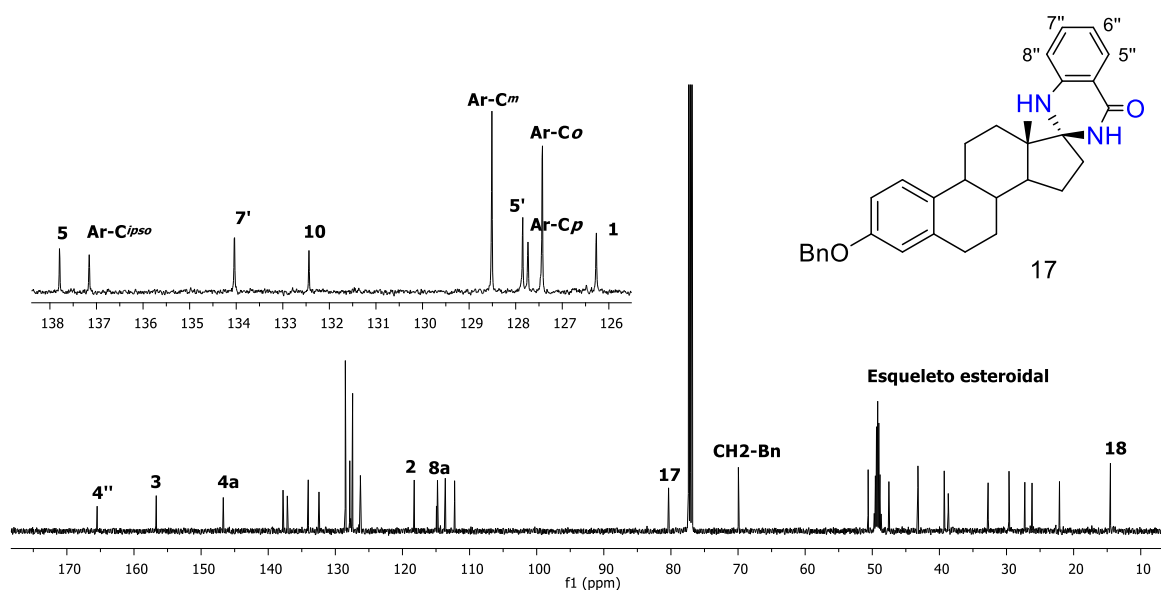
En el espectro de RMN ^1H a frecuencias altas se observan señales múltiples en 7.76, 7.37, 7.38, 7.32, 7.27 y 7.08 ppm asignadas a los protones Ar-Ho, Ar-Hm, Ar-Hp, H-5'' y H-1 respectivamente. Las señales múltiples en 6.76, 6.75 y 6.65 ppm fueron asignadas a los H-6'', H-2 y H-4. En 5.02 ppm se encuentra una señal simple correspondiente al protón CH₂Bn. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.



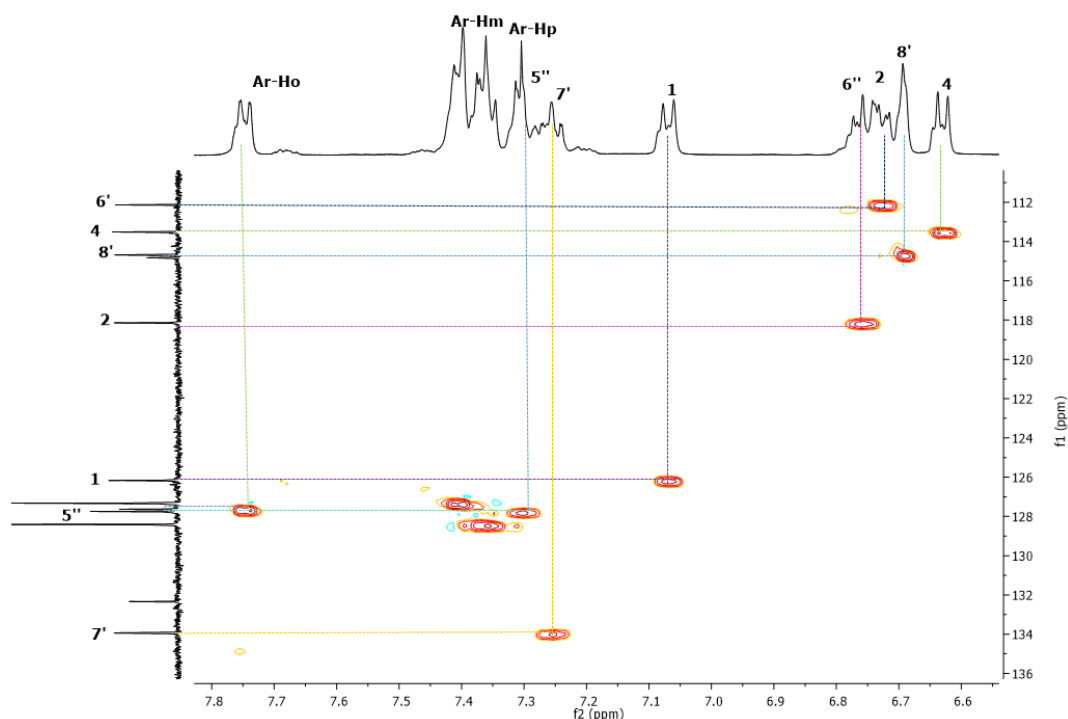
Espectro 26. Espectro RMN ^1H (500 MHz, Piridina- d_5) de compuesto **17**.

En el espectro 25 de RMN ^{13}C de **17**, a frecuencias altas en 165.8 ppm se encuentra el carbonilo de amida (C-4''). En 137.4, 128.8 (x2), 128.0 y 127.7 ppm (x2) corresponden a los carbonos bencílicos del grupo protector de Ar-C_{ipso}, Ar-C_m, Ar-C_p y Ar-C_o,

respectivamente. Las señales de los carbonos aromáticos de la porción de 2-aminobenzamida se localizan en 147.0, 134.3, 128.1, 115.2, 113.9 y 112.5 ppm, las cuales fueron asignadas a los C-4a, C-7', C-5', C-8a, C-8' y C-6' respectivamente. La señal más significativa se observa en 80.6 ppm correspondiente al carbono espiro, al sufrir un significativo desplazamiento químico a frecuencias bajas al pasar de un C-sp² a un C-sp³. En 70.2 ppm se encuentra una señal del metileno del bencilo. A frecuencias bajas se pueden observar las señales características de los carbonos correspondientes al esqueleto esteroidal.



Espectro 27. Espectro RMN ¹³C (125 MHz, Piridina-d₅) de compuesto 18.



Espectro 28. Espectro RMN HSQC de compuesto 17.

5.4 Actividad antiproliferativa

En la tabla 8 se presentan los resultados de IG_{50} de los compuestos acoplados **15a** y **15b**, mostrando valores entre 16 y 33 μM , lo cual se considera una actividad moderada. Sin embargo, al comparar los valores contra los de la abiraterona, se observa una mejor actividad antiproliferativa de **15a** y **15b** para todas las líneas celulares, excepto contra celular T-47D [57].

Tabla 8. Valores de antiproliferación de derivados esteroideos espiroquinazolina.

Compuesto	IG_{50} (μM)					
	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
15a	21 $\pm$ 8.2	33 $\pm$ 3.5	22 $\pm$ 2.4	25 $\pm$ 7.8	26 $\pm$ 7.6	31 $\pm$ 5.3
15b	19 $\pm$ 1.7	17 $\pm$ 2.0	19 $\pm$ 2.0	16 $\pm$ 0.64	18 $\pm$ 3.8	23 $\pm$ 6.7
Abilaterona	95 $\pm$ 8	85 $\pm$ 8.9	>100	24 $\pm$ 4.5	7.9 $\pm$ 0.5	42 $\pm$ 7.7
Galaterona	3.9 $\pm$ 1.3	3.9 $\pm$ 0.5	10 $\pm$ 0.9	2.1 $\pm$ 0.1	5.3 $\pm$ 0.4	2.7 $\pm$ 0.2

5.5 Cálculos computacionales

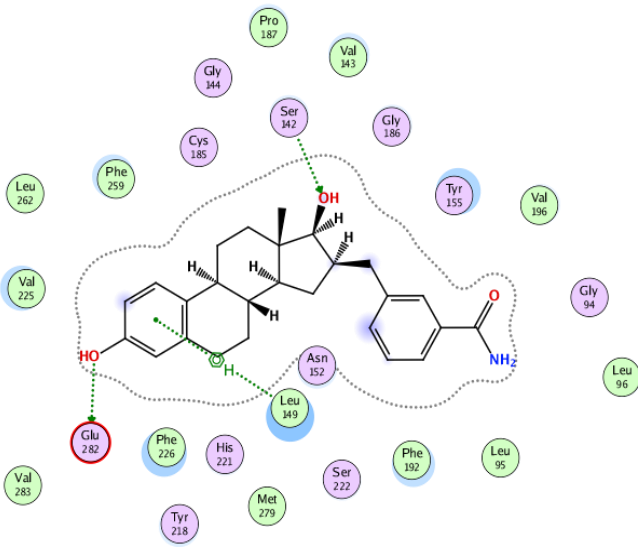
Para predecir la actividad biológica de las espiroquinazolinas esteroideas, se realizó el acoplamiento molecular, esta técnica de mecánica molecular nos permite predecir energías y modos de enlace entre ligandos y proteínas, con el fin de formar un complejo estable (proteína-ligando).

Se ha reportado en la bibliografía la realización de estudios de dinámica molecular del complejo 6EEO en heterociclos nitrogenados, es por lo que, para estudiar el posible modo de unión de los compuestos obtenidos.

Para el acoplamiento molecular de nuevos ligandos se debe asegurar que la predicción de su modo de unión con el blanco farmacológico se lleve a cabo con éxito, por tal motivo, se realizó la validación de su acoplamiento. Esto consiste en reacoplar el ligando co-cristalizado (**E2B**) sobre la enzima anhidrasa carbónica.

Se muestran los resultados (Tabla 9) de la validación en donde se observa que se conservan todas las interacciones del ligando co-cristalizado, obteniendo un puntaje de -5.11 kcal/mol.

Tabla 9. Validación acoplamiento molecular anhidrasa carbónica del ligando co-cristalizado (ID: E2B).



Interacciones por puente de hidrogeno	Interacciones π - π	Puntaje kcal/mol
Ser 342, Glu 282	Leu 349	-5.11

Se presentan los diagramas de 2D (Figura 10), donde se observan las interacciones mencionadas.

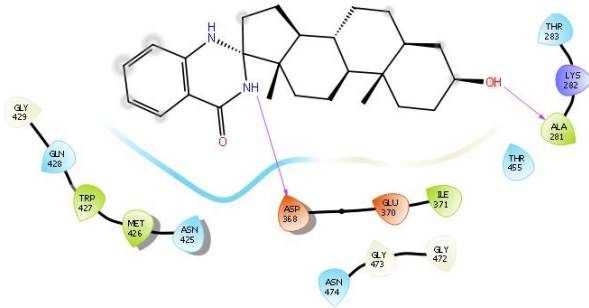
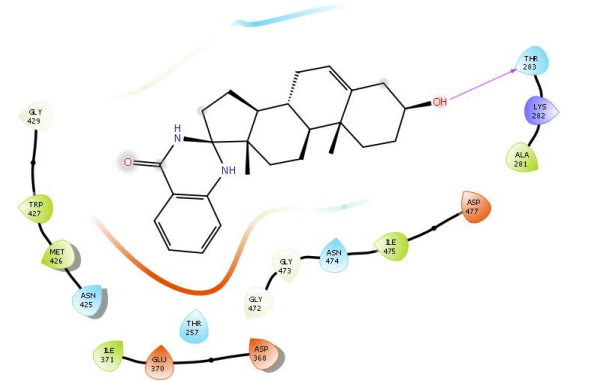
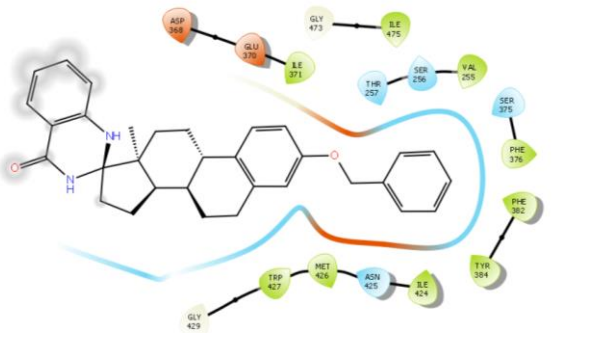
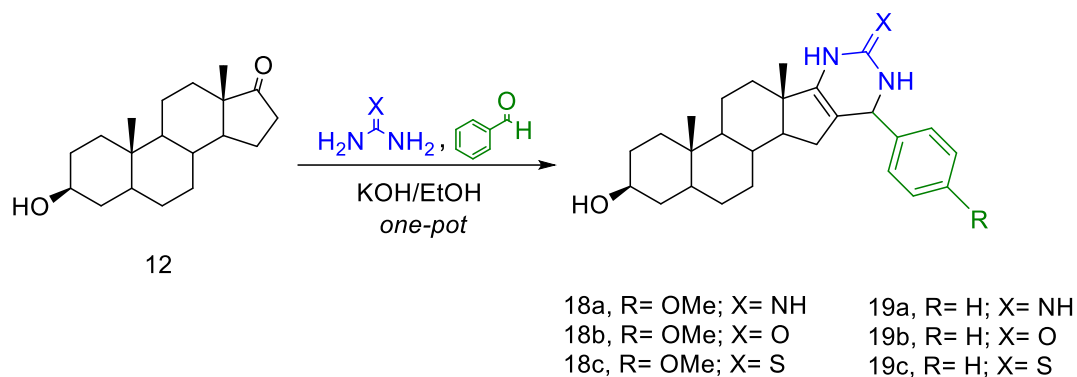
Compuesto	Interracciones
	Aminoácidos que establecen puentes de hidrógeno: Asp 368, Ala 281.
	Se observa una interacción mediante un puente de hidrógeno entre el protón del H del grupo OH en C3 y el residuo de Thr 283.
	El compuesto 17 no presenta ninguna interacción, solo se observa como la parte hidrofóbica se acomoda dentro del bolsillo hidrofóbico del centro activo de la proteína.

Figura 10. Conformación de los compuestos dentro del sitio de unión de la isoforma CA IX (PDB: ID 6EEO)

Síntesis de pirimidinas mediante una reacción *one pot*.

5.6.1 Química

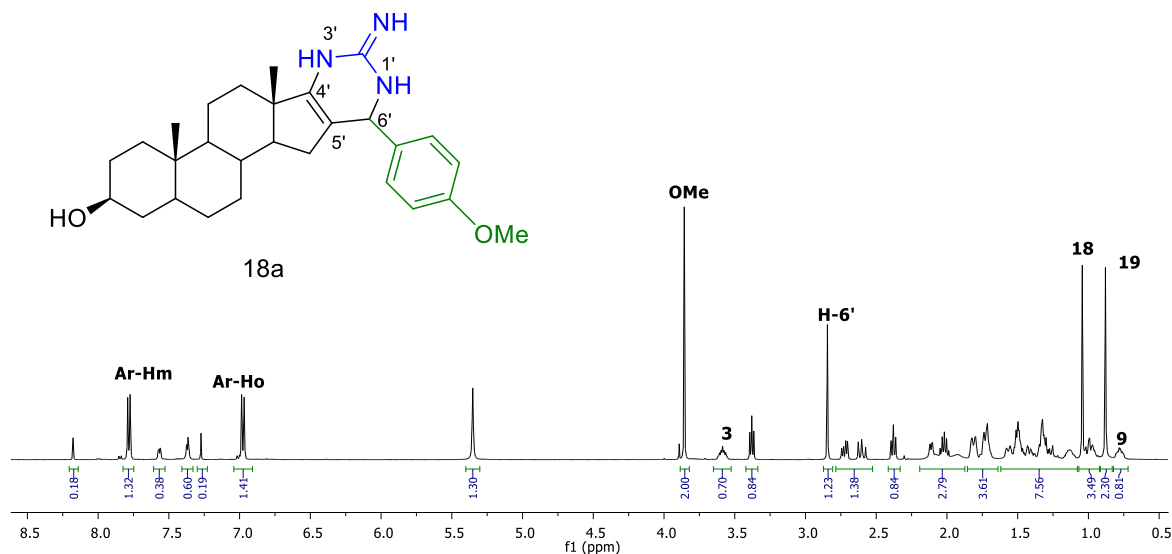
Dada la importante actividad biológica de este tipo de compuestos, se realizó la síntesis de nuevos compuestos esteroidales con un anillo pirimidínico fusionado en el anillo D mediante una reacción *one-pot* (multicomponente). Según la literatura se han reportado una amplia familia de dehidriopirimidinas utilizando diferentes aldehídos sustituidos (benzaldehído, metoxibenceno, etc.) nucleófilos (tiourea, urea), utilizando diversos catalizadores ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , CuBr_2 , AlCl_3) y el empleo de un aditivo ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, TMSBr) [53]. Por lo cual se realizaron algunos ensayos utilizando como materia prima *trans*-androsterona, benzaldehído, ZnCl_2 como catalizador y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ como aditivo según lo reportado, la mezcla de reacción se mantuvo a 90 °C en un sistema de reflujo, utilizado como disolvente CH_3CN , se monitoreó mediante CCF, pero no se observó ningún cambio con respecto a la materia prima. Dada la experiencia del grupo de investigación se realizaron algunos cambios en la metodología, en los siguientes ensayos no se utilizaron catalizadores ni aditivos. En un matraz de dos bocas se colocó la cetona esteroidea correspondiente, benzaldehído y KOH en etanol, después de 15 minutos se adicionó el correspondiente binucleófilo (guanidina, urea y tiourea), la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo hasta consumir la materia prima aproximadamente 10 h (Esquema 24). Durante el desarrollo de esta metodología no se han encontrado las condiciones óptimas para la obtención y purificación de los derivados de urea.



Esquema 24. Síntesis de compuestos esteroidales pirimidínicos mediante una reacción *one-pot*.

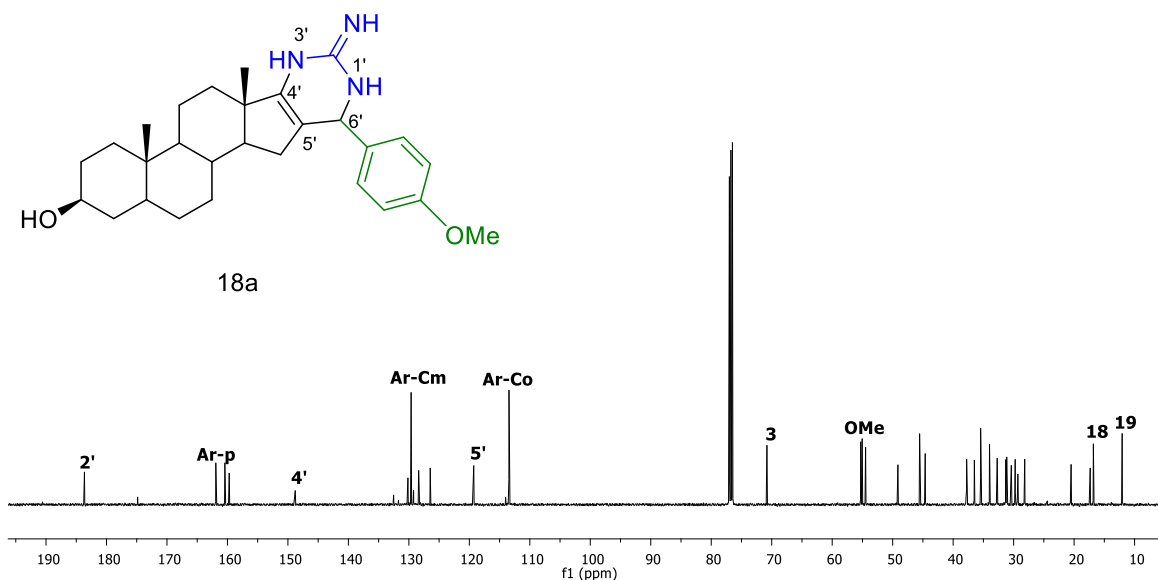
5.6.1.2 Caracterización de pirimidinas mediante una reacción *one pot*.

Las señales observadas en el espectro 27 de RMN de ^1H corroboran la formación de **18a**, entre las que se puede resaltar la presencia de señales múltiples a frecuencias altas en 7.78 y 6.98 ppm, estas dos señales dobles correspondiente al Ar-H_m y Ar-H_o, respectivamente. En 3.86 ppm se aprecia una señal simple asignada al OMe, esta señal se encuentra desplazada debido al efecto inductivo que ejerce el átomo de oxígeno sobre el grupo metilo. En 3.59 ppm, se observa una señal múltiple que corresponde a H-3. Una señal característica de la formación del heterociclo es la presencia de una señal simple en 2.84 ppm que corresponde al H-6'. Finalmente, observamos en 1.04 y 0.88 ppm dos señales simples que corresponden a los H-18 y H-19 respectivamente.



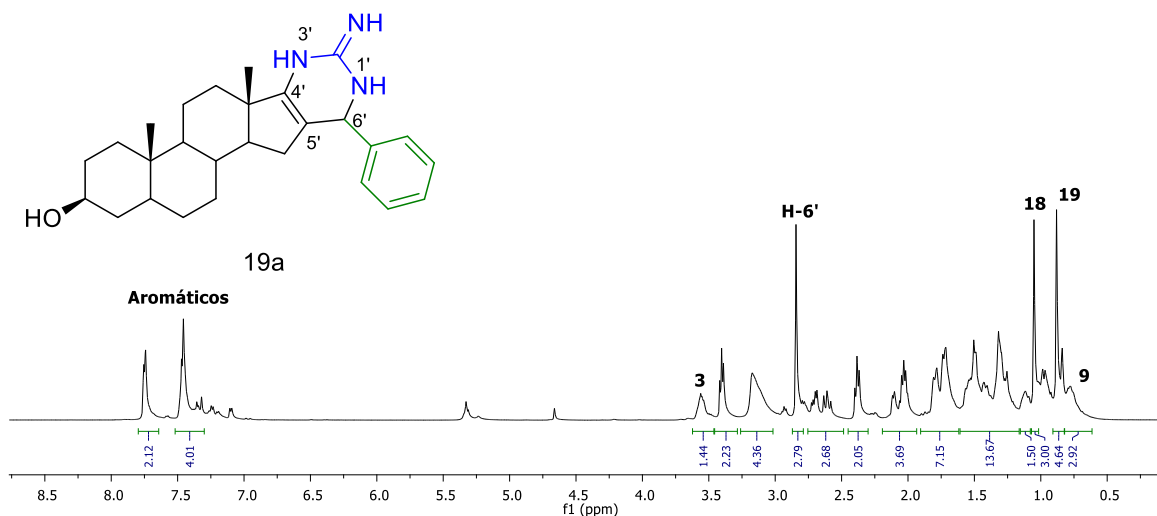
Espectro 29. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **18a**.

En el espectro 28 de RMN ^{13}C se presentan nuevas señales en 183.8, 148.8, 119.3 ppm señales que corresponden al heterociclo pirimidínico formado. Los carbonos aromáticos se aprecian en 161.9, 129.6, 113.5 ppm asignados a Ar- C_p , Ar- C_m y Ar- C_o . En 55.3 ppm se observa una nueva señal correspondiente al OMe. Las demás señales corresponden a la estructura propuesta.



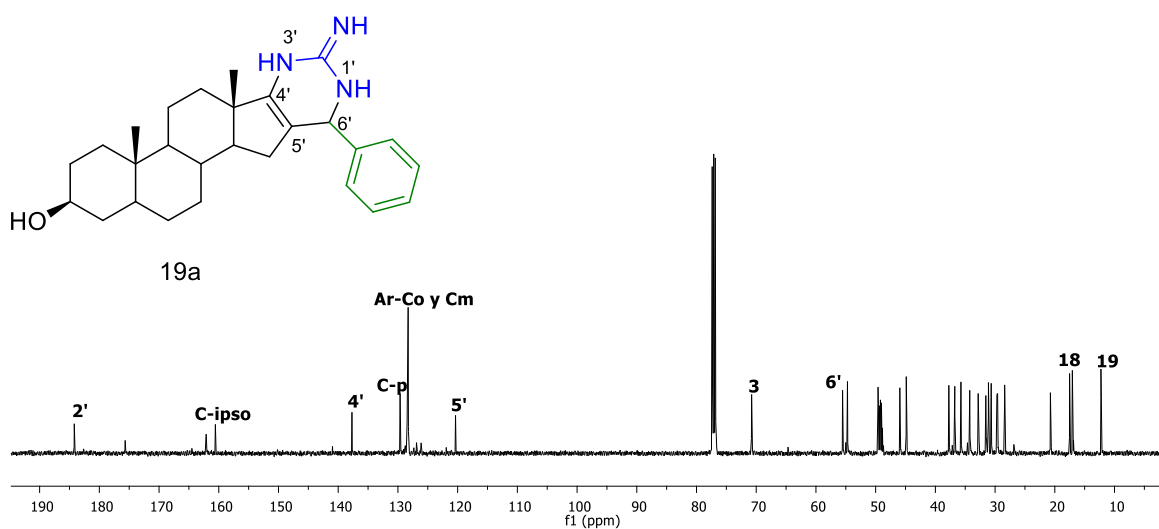
Espectro 30. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **18a**.

Se describe el espectro de RMN de ^1H del compuesto **19a**, las dos señales múltiples en 7.74 y 7.46 ppm, las cuales corresponden a los protones aromáticos Ar- H_o , Ar- H_m y Ar- H_p . En 3.56 ppm se observa una señal múltiple que corresponde a H-3. El protón H-6' se encuentra en 2.84 ppm como una señal simple. Finalmente, en 1.05 y 0.88 ppm se aprecian dos señales simples que integran para 3 hidrógenos correspondientes a H-19 y H-18.



Espectro 31. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **19a**.

En el espectro de RMN ^{13}C , a frecuencias altas las señales que confirman la formación del heterociclo pirimidínico en 184.2, 137.7 y 120.4 ppm pertenecientes a C-2', C-4' y C-5'. Por otro lado, observamos señales correspondientes al grupo fenilo en 129.6, 128.4 y 128.3 ppm asignadas a Ar- H_p , Ar- H_o y Ar- H_m . En 55.5 ppm se observa C-6', el cual se encuentra desplazado por efecto de anisotropía que ejerce el grupo fenilo.

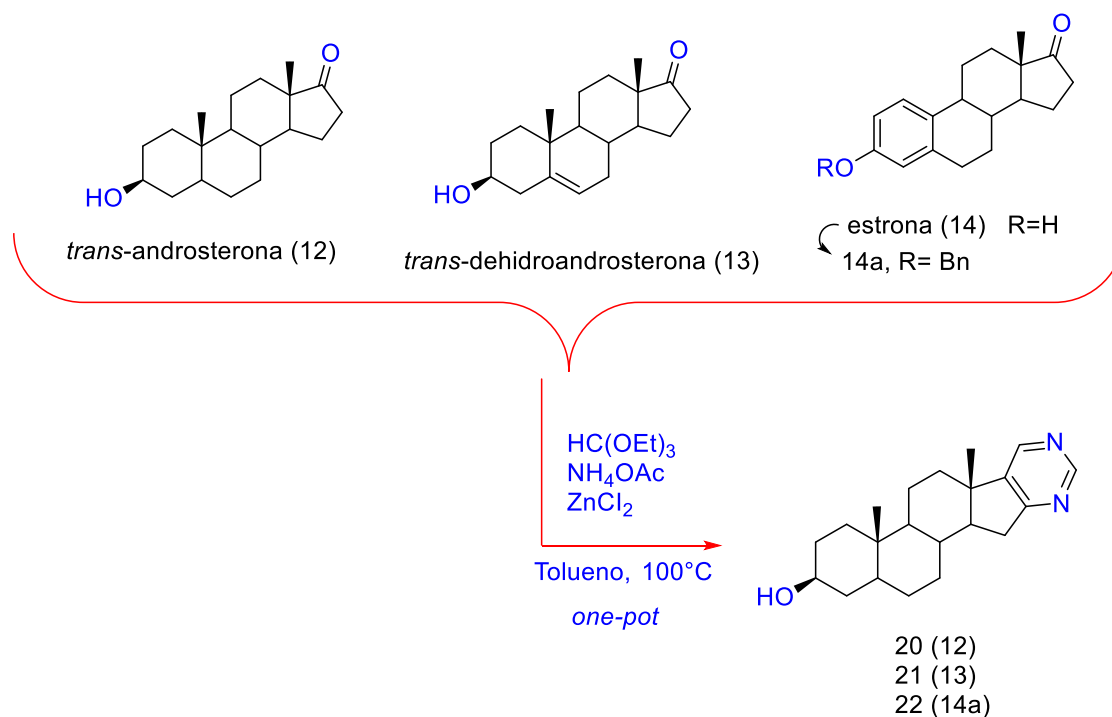


Espectro 32. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **19a**.

5.7 Reacciones multicomponentes

5.7.1 Química

Con la finalidad de desarrollar nuevas estrategias de síntesis nos propusimos formar nuevos compuestos esteroidales con un anillo pirimidínico fusionado en el anillo D de diferentes esteroides mediante una reacción *one-pot* [40] en condiciones anhidras; utilizando como materia prima *trans*-androsterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona. La síntesis consiste en una reacción de tres componentes, la cual implica la formación de un complejo mediante el $\text{HC}(\text{OEt})_3$ y el catalizador, seguida de la materia prima de interés y finalmente la adición del NH_4OAc , la cual conduce a la formación de derivados esteroidales tipo pirimidína como se muestra en el esquema 26.



Esquema 25. Obtención de pirimidína esteroidal a partir de *trans*-androsterona en una sola etapa de reacción.

Se realizaron diferentes ensayos aumentando el número de equivalentes de ZnCl_2 y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, como se muestra en la tabla 10. En los ensayos realizados con ZnCl_2 se observa la formación de diferentes subproductos y el tiempo de reacción es mayor con respecto al $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}$. En el caso de los ensayos realizados con estrona (14) no se observaba ningún cambio sustancial al aumentar los equivalentes de ZnCl_2 , por lo cual en el ensayo 1 se mantuvo a reflujo, sin conseguir un cambio significativo; por lo cual se protegió la estrona con $\text{BnBr}/\text{K}_2\text{CO}_3$, NaOH .

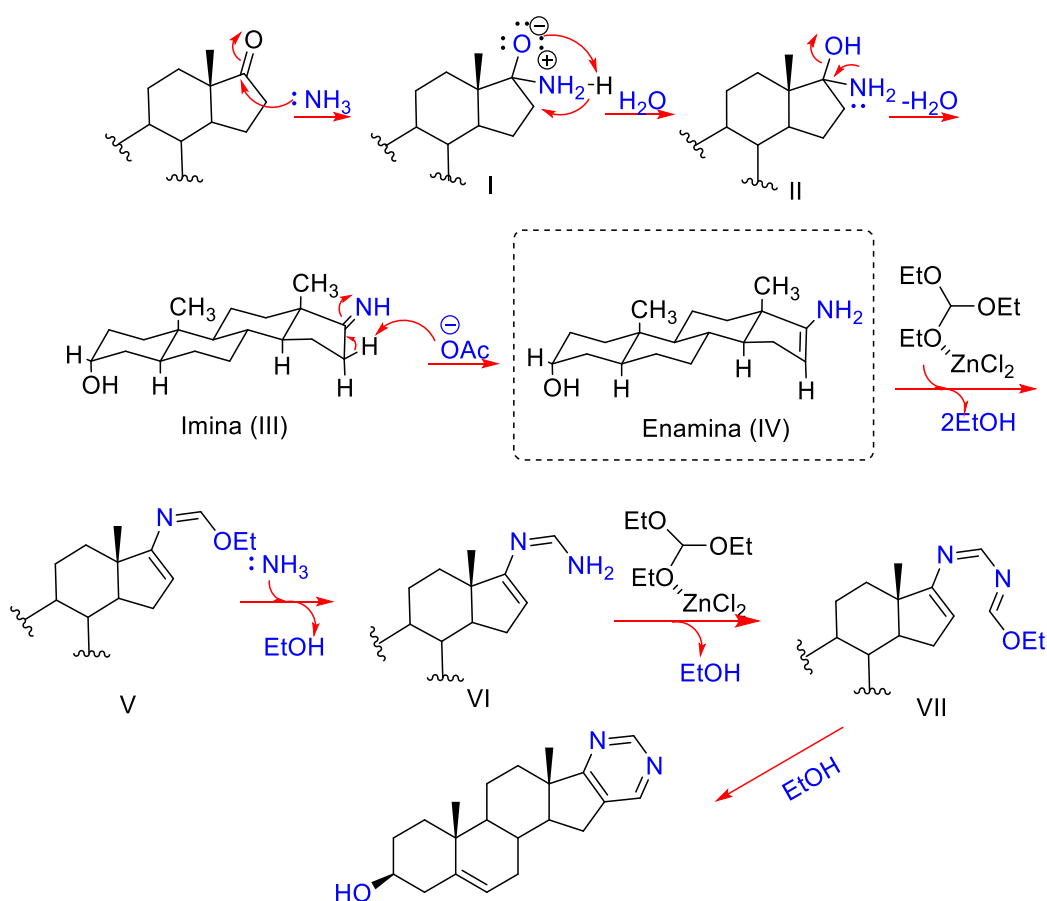
Tabla 10. Parámetros de reacción para la síntesis de compuestos tipo pirimidina.

Materia prima	Ensayo	Disolvente	Equivalentes		T(°C)	Tiempo (h)	Yield (%)
			(ZnCl_2)	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$			
Estrona	1	Tolueno	1.0	1.5	100	84	25 %
	2		1.5	2	100	72	54 %
<i>trans</i> -androsterona	3		1.5	2.0	Reflujo (110)	36	56 %
<i>trans</i> -dehidroandrosterona	4		1.0	2.0	Reflujo (110)	24	64 %

Se encontraron las condiciones óptimas para obtener compuestos pirimidínicos mediante esta metodología, se realizaron diferentes modificaciones como se observa en la tabla 10 para encontrar las condiciones óptimas de reacción obteniendo los compuestos deseados en rendimientos moderados (58-62%).

En el mecanismo propuesto para la síntesis de derivados de pirimidina inicia con la formación de enamina; esta se forma a través de un ataque nucleofílico por parte de la fuente de nitrógeno (NH_4OAc), posteriormente una asistencia electrónica por parte del par de electrones libres del nitrógeno generando la imina (intermediario III). Posteriormente hay una extracción de un hidrogeno ácido por parte de la base dando lugar a la formación de una enamina (intermediario IV). Una vez formada la

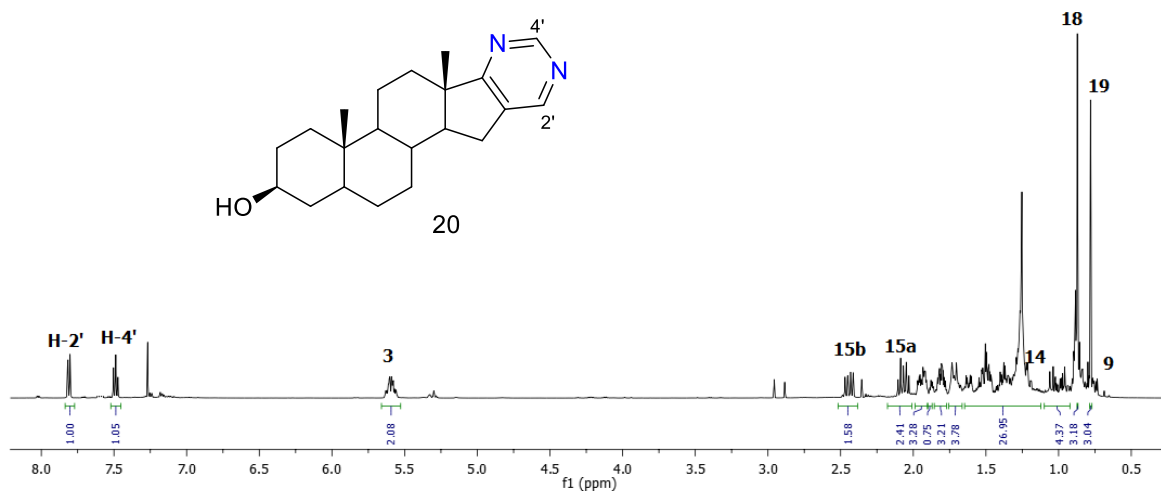
enamina se lleva a cabo la coordinación de ZnCl_2 con el ortoéster, produciendo la activación del acetal, el cual conduce a la formación del intermediario **V** generando la liberación de etanol. El intermediario **V** reacciona con el amoníaco liberado del NH_4OAc para producir el intermediario vinilamidina **VI**. Finalmente, la reacción de **VI** con otra molécula de acetal, que es activada por el ZnCl_2 , conduce a la formación del derivado pirimidína correspondiente a través de ciclación intramolecular del intermediario **VII**.



Esquema 26. Obtención de pirimidína esteroidal a partir de *trans*-androsterona en una sola etapa de reacción.

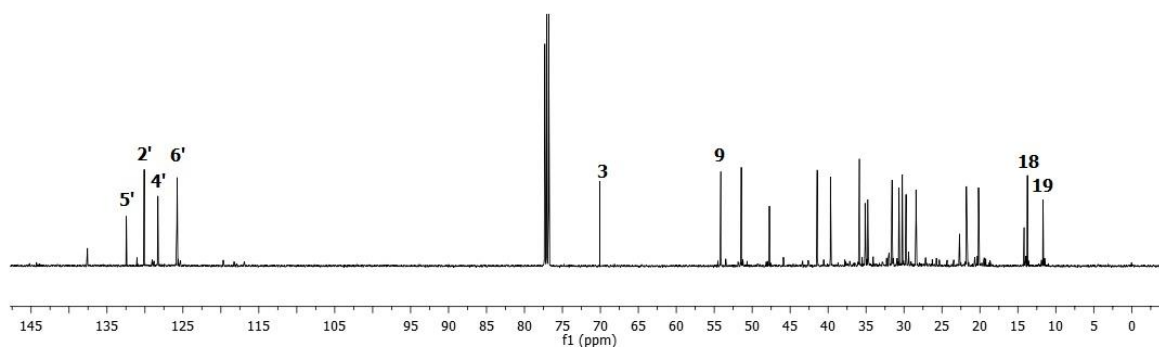
5.7.1.2 Caracterización de reacciones multicomponentes

En el espectro de RMN ^1H del compuesto, se pueden observar los desplazamientos más representativos, a frecuencias altas, se encuentran los hidrógenos aromáticos en 7.82 y 7.80 ppm, el protón de base oxígeno H-3 se presenta como una señal simple en 5.6 ppm. Un cambio significativo se observa en los hidrógenos H-15a y H-15b, ambos hidrógenos se presentan como dos señales múltiples en 2.44 y 2.07 ppm. Las señales simples de los CH_3 , correspondientes a los H-18 y H-19.



Espectro 33. Espectro RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de compuesto **20**.

En el espectro de ^{13}C se observan ciertos cambios significativo como son la ausencia de carbonilo de C-17 en 221.2 ppm y se presentan nuevas señales correspondientes a la formación del heterociclo de pirimidina en 132.5, 130.1, 128.3 y 125.8 ppm asignados a los C-5', C-2', C-4' y C-6'. También se observan los carbonos alifáticos del esqueleto esteroide de los cuales las señales 13.5 y 12.0 ppm corresponden a los C-18 y C-19.



Espectro 34. Espectro RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de compuesto **20**.

5.7.2 Docking

Se realizó el *docking* molecular, esta técnica ayuda a determinar la conformación preferente de los productos, con el fin de formar un complejo estable (proteína-ligando). En la figura 10, se observa el complejo proteína-ligando, se muestra que la parte hidrófoba del compuesto **20**, **21** y **122**, se inserta en el sitio estrecho y profundo de la unión de HIV-gp-120-CD4, el cual se encuentra alineándose con residuos hidrofóbicos, (Figura 11). Los átomos polares del compuesto **13** forman un enlace por puente de hidrógeno con los residuos Asp 368.

El software proporcionó valores de energía relativos de cada compuesto de esta manera nos ayuda predecir cuál es la mejor interacción entre la proteína y el ligando. Por lo tanto, menores valores de energía indican una mejor interacción con el sitio de unión de la proteína. El compuesto **22** presentó una energía de interacción -4.9 kcal/mol.

Tabla 11. Energía de acoplamiento de esteroides pirimidínicos con la proteína HIV-gp-120-CD4

Compuesto	S (UA)
20	-4.5
21	-4.4
22	-4.9

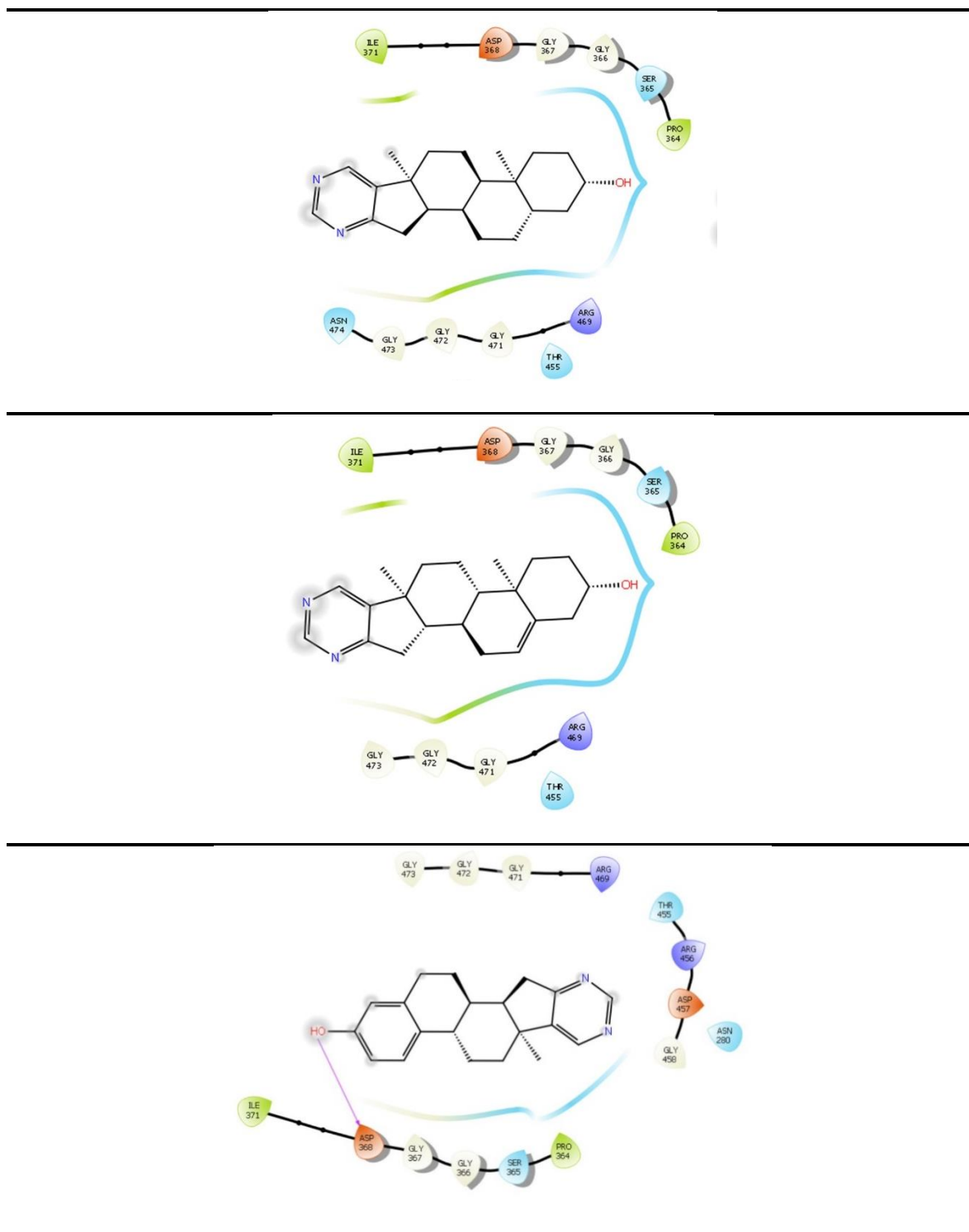


Figura 11. Predicción del complejo proteína-ligando del compuesto 20, 21 y 22, solo con aminoácidos que establecen puente de hidrogeno.

5.8 Reacciones *one-pot*.

5.8.1 Diseño

5.8.1.1 Acoplamiento molecular sobre la enzima anhidrasa carbónica IX

Esta técnica predice la interacción de los compuestos, con el fin de formar un complejo estable (proteína-ligando).

Con la finalidad de predecir las posibles actividades de los compuestos diseñados sobre distintos blancos, se realizó la predicción de su actividad biológica con el programa computacional PASS. A continuación, se muestran las probabilidades de actividad biológica arrojadas con PASS, en las cuales se observa la probabilidad de actividad (Pa) e inactividad (Pi). Valores de $Pa > 0.7$ indican buena probabilidad de mostrar actividad biológica experimental, valores de Pa en un rango de 0.5-0.7 indican una mediana probabilidad y por lo tanto valores de $Pa < 0.5$ indican baja probabilidad (Tabla 12).

Tabla 12. Predicción de la actividad biológica con el programa PASS.

Ligando	Actividad biológica									
	Antimetastásico		Antineoplásico		Agonista de apoptosis		Anticancerígeno		Hepatoprotector	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
23a	0.446	0.033	0.467	0.082	0.338	0.105	0.292	0.062	0.254	0.083
23b	0.434	0.036	0.468	0.081	0.346	0.100	0.363	0.038	0.301	0.059
24a	0.511	0.018	0.454	0.086	0.295	0.130	0.222	0.100	0.279	0.047
24b	0.511	0.018	0.454	0.086	0.295	0.130	0.222	0.100	0.294	0.062
25a	0.224	0.114	0.269	0.172						
25b	0.244	0.114	0.226	0.094						

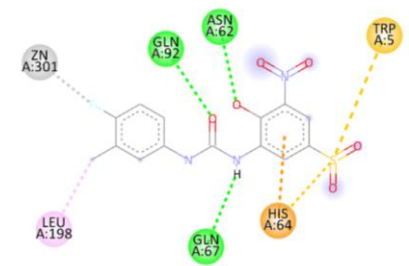
Pa: Probabilidad de actividad, Pi: Probabilidad de inactividad

Con base en lo anterior, se puede inferir que las predicciones de actividad biológica a través de este programa (PASS) pueden ser de gran utilidad para la elección de nuevas moléculas biactivas.

Para el acoplamiento molecular de nuevos ligandos se debe asegurar que la predicción de su modo de unión con el blanco farmacológico se lleve a cabo con éxito, por tal motivo, se realizó la validación de su acoplamiento. Esto consiste en realizar un reacomodar el ligando co-cristalizado (**J6V**) sobre la enzima anhidrasa carbónica.

A continuación, se muestran los resultados (Tabla 13) de la validación en donde se observa que se conservan todas las interacciones del ligando co-cristalizado, obteniendo un puntaje de -5.11 kcal/mol.

Tabla 13. Validación acoplamiento molecular anhidrasa carbónica del ligando co-cristalizado (**J6V**)



Interacciones por puente de hidrogeno	Interacciones π - π	Interacciones van der Waals	Puntaje kcal/mol
Gln-92, Asn-62, Gln-67	His-64, Trp-5	Thr-200	-5.11

Para el diseño de los compuestos se consideró el patrón farmacofórico de los inhibidores de CA; por ejemplo, el compuesto SLC-011, así como el núcleo esteroideal (Esquema 28).

Los resultados presentados únicamente son predictivos, por lo que pueden llegar a variar en diferentes modelos *in vitro* e *in vivo*. En la Tabla 14 se presentan los valores de la energía relativa de acoplamiento (ΔG) en kcal/mol mediante un modelado molecular ciego. Se usó el compuesto J6V como referencia el cual se encontraba

acoplado con la enzima **6EEO** descargada del *Protein Data Bank* (PDB). El software proporcionó valores de energía de cada compuesto que es una manera de predecir qué tan favorable es la interacción entre la enzima y el ligando. Por lo tanto, menores valores de acoplamiento (menor energía) indican una mejor interacción.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 14, donde se puede observar que el compuesto **24b** es el que presenta menor energía de interacción (-7.42 kcal/mol) correspondiente a *trans*-dehidroandrosterona, con respecto a los demás compuestos.

Tabla 14. Energías de acoplamiento por *docking*.

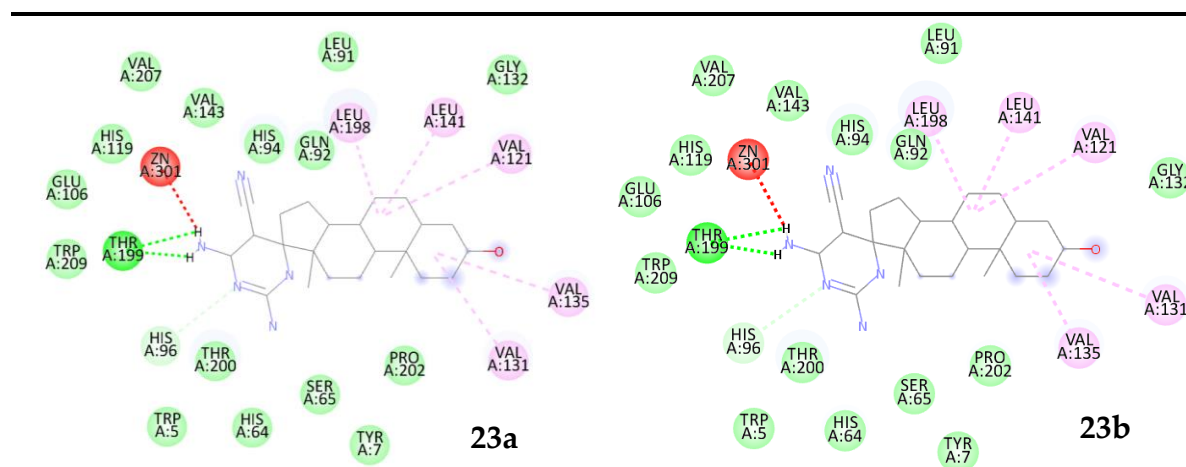
Ligando		CA (IX) PDB: 6EEO
		Energía de acoplamiento kcal/mol
Ligando co-cristalizado	J6V	-5.11
<i>trans</i> -androsterona	23a	-7.14
	23b	-7.13
<i>trans</i> -	24a	-7.39
dehidroandrosterona	24b	-7.42
estrona	25	-6.55

Al visualizar los resultados obtenidos con el software *Discovery Studio* se observó que, la interacción que tienen los ligandos con la enzima se observa que los compuestos **24a** y **24b** son los únicos que presentan la interacción clave con el cofactor Zn-301, además se observan las interacciones por puente de hidrógeno con Thr-199, por otro lado, también podemos apreciar que la parte hidrofóbica del compuesto se alinea mediante interacciones alquílicas con los aminoácidos Leu-198, Leu-141, Val-121, Val-135, Val-131.

Tabla 15. Acoplamiento molecular CA con compuestos espiro pirimidinas.

	<i>trans</i> -androsterona		<i>trans</i> -dehidroandrosterona		estrone
	23a	23b	24a	24b	25
Cofactor			Zn-301	Zn-301	
Interacciones por puente de hidrógeno	Asp-190, Lys-261, Leu-47	Thr-199	Thr-199	Thr-199	
Interacciones π - π					Leu-91
Interacciones alquílicas	Pro-46	Leu-91, Val-131	Leu-198, Leu-141, Val-121, Val-135, Val-131	Leu-198, Leu-141, Val-121, Val-135, Val-131	Leu-198
Interacciones donador-donador		Gln-92			

A continuación, se presentan los diagramas de 2D (Figura 12), donde se observan las interacciones mencionadas en la tabla 13.



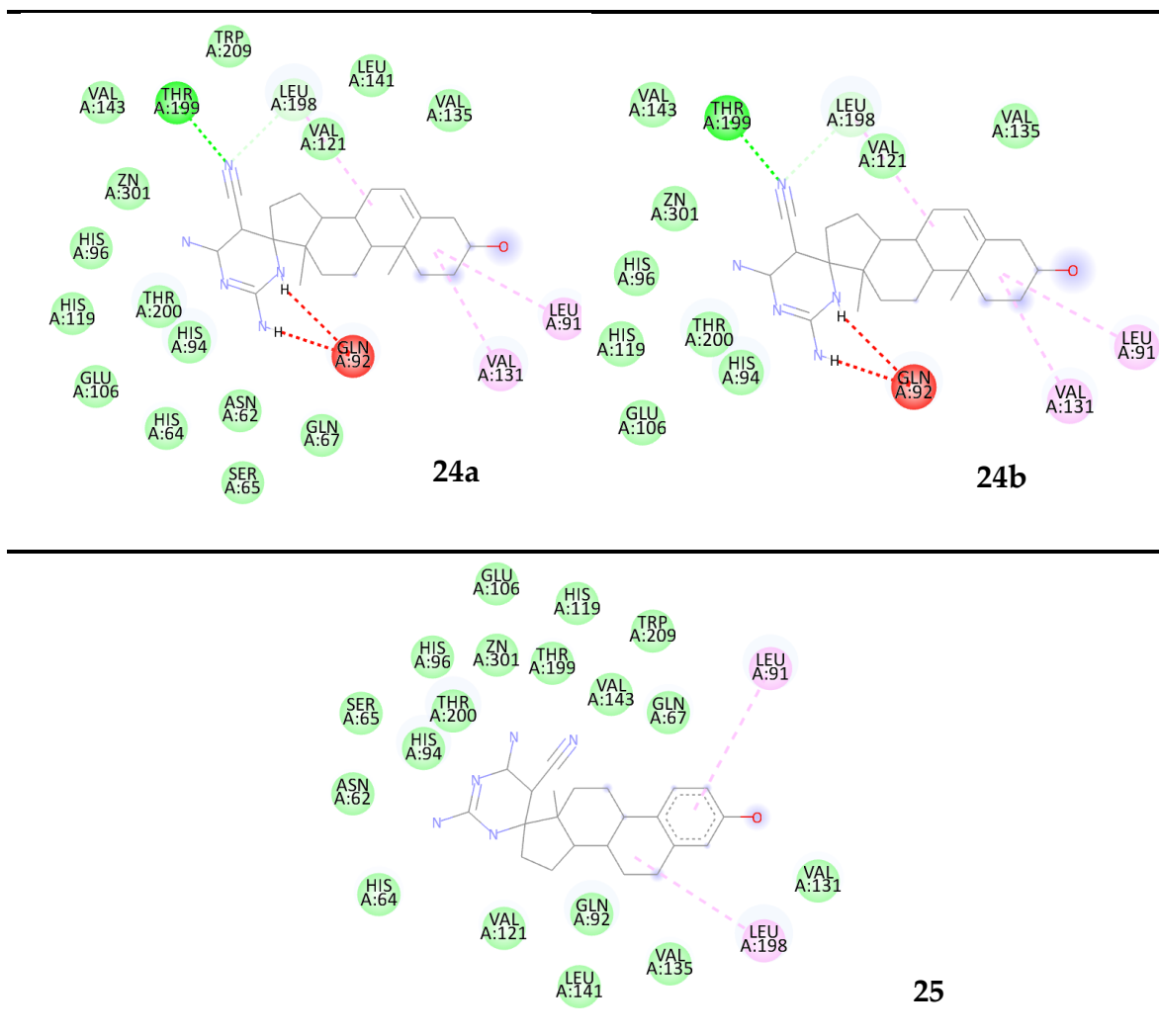
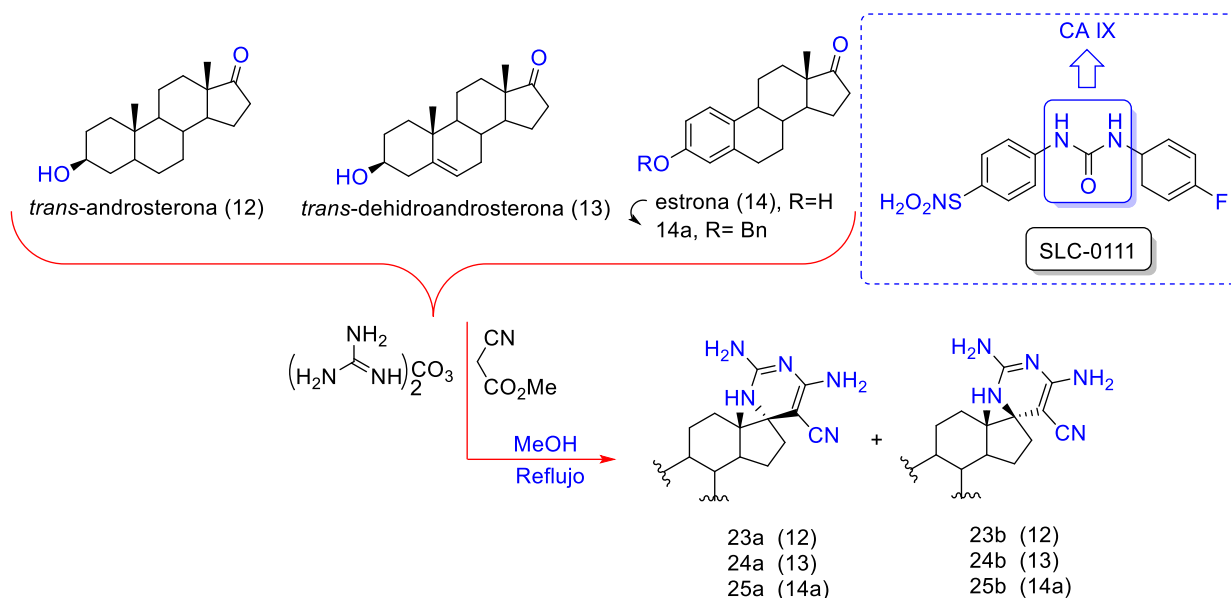


Figura 12. Conformación de los compuestos dentro del sitio de unión de la isoforma CA IX (PDB: ID 6EEO)

5.8.2 Química

Para la formación de los derivados tipo pirimidina se lleva a cabo mediante una reacción de tres componentes con malononitrilo, carbonato de guanidinio y la correspondiente cetona, mediante una reacción en domino Knoevenagel/Michael/ciclocondensación [54]. Para ello se utilizará como materia prima la *trans*-androsterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona.



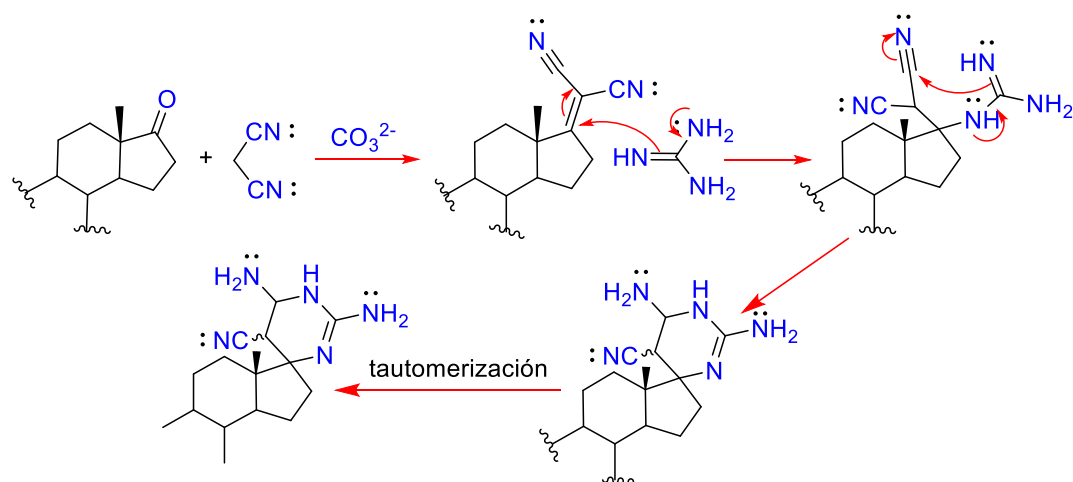
Esquema 27. Obtención de espiro-pirimidina esteroidal: mediante una reacción en domino.

Se llevó a cabo la reacción de tipo domino con *trans*-androsterona y *trans*-dehidroandrosterona, en los cuales se realizaron diferentes ensayos incrementando equivalentes de reactivos como se muestra en la tabla 14, donde se observa que los primeros ensayos que se realizaron solo se obtenía la recuperación de materia prima. Finalmente, cuando se realizó el ensayo número 4, las condiciones fueron favorables, ya se observó la completa transformación de materia prima, obteniendo un compuesto más polar que la materia prima. Se logró obtener el espectro de RMN del crudo de reacción en donde se confirma el posible compuesto propuesto de *trans*-androsterona y *trans*-dehidroandrosterona. Por el momento no se han encontrado las condiciones óptimas de purificación para su posterior caracterización.

Tabla 16. Condiciones ensayadas para la obtención de compuestos espiro.

Ensayo	Equivalentes			Producto
	Cetona	Malononitrilo	Carbonato	
1	1	1.1	0.7	Recuperación de materia prima
2	1	1.1	1.4	Recuperación de materia prima
3	1	2.2	0.7	Recuperación de materia prima
4	1	2.2	1.4	Posible compuesto

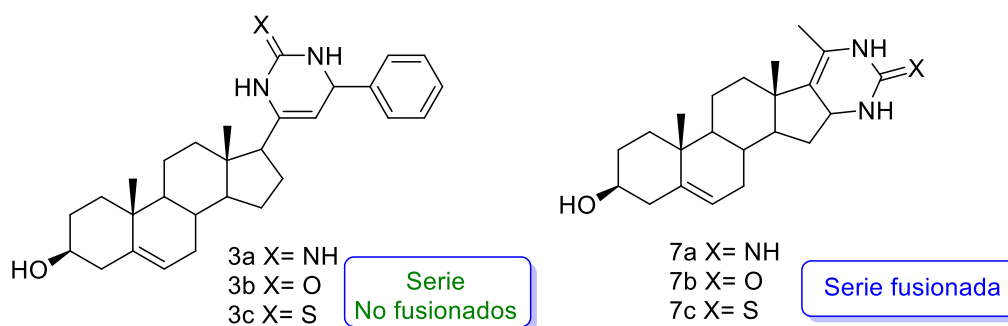
Se propone un posible mecanismo para la formación de espiro aminopirimidonas mediante carbonato de guanidinio como fuente de guanidina libre mediante metanol a reflujo, este medio básico generado se utilizó para la generar un carbanión del malononitrilo, el cual realiza una adición nucleofílica al carbono del carbonilo generando el intermediario **I** a través de una condensación de Knoevenagel; el intermediario **I** actúa como un aceptor de Michael, hay una asistencia electrónica por parte de la guanidina la cual ataca al carbono electrofílico (intermediario **II**); posteriormente se lleva a cabo de ciclocondensación intramolecular (intermediario **III**). Finalmente, se lleva a cabo una tautomerización obteniendo los espiro aminopirimidínonas.



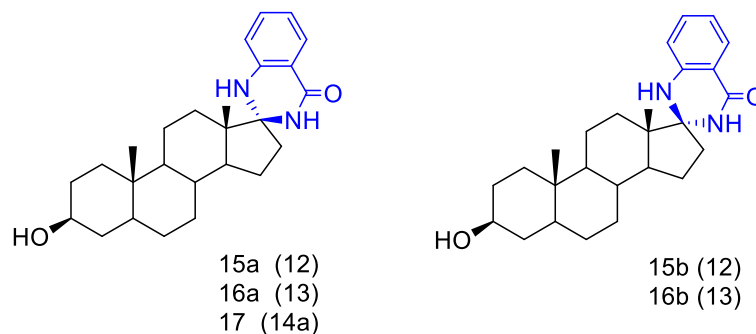
Esquema 28. Posible mecanismo para la síntesis de espiro amino pirimidínonas vía una reacción domino Knoevenagel/Michael/ciclación.

6. Conclusiones

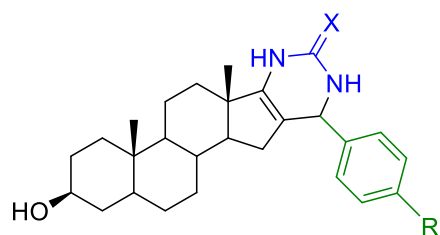
- a) Se sintetizó una serie de nuevos derivados esteroidales tipo pirimidina y fueron evaluados para determinar la actividad antiproliferativa contra un panel de seis líneas celulares de cáncer humano. A partir de estos datos, se encontró que los compuestos son un agente antiproliferativo prometedor y se encontró que el compuesto **7c** es el más activo, especialmente contra las líneas de celulares de cáncer T-47D y WiDr, lo que indica la alta selectividad de este heteroátomo contra estas líneas celulares.



- b) Se llevó a cabo la síntesis de espiroquinazolinas esteroidales a partir de la *trans*-androsterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona bencilada, empleando como catalizador $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ y líquido iónico imidazolio en rendimientos moderados.

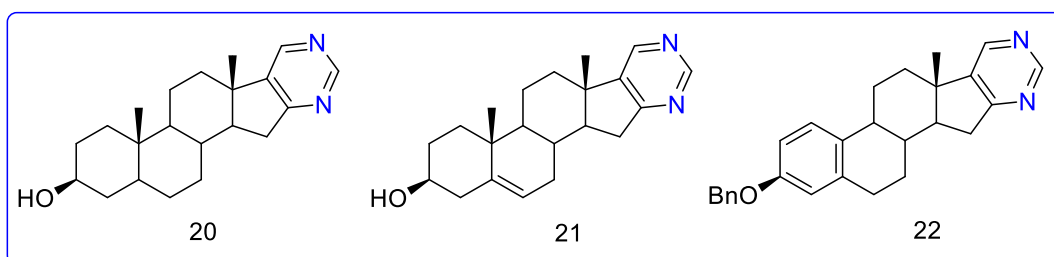


- c) Se sintetizó una familia de nuevos derivados esteroidales pirimidínicos fusionados al anillo D, mediante la reacción de *one-pot*, minimizando tiempos de reacción.

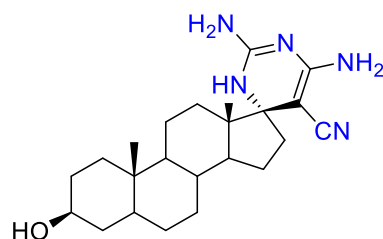


18a, R= OMe; X= NH	19a, R= H; X= NH
18b, R= OMe; X= O	19b, R= H; X= O
18c, R= OMe; X= S	19c, R= H; X= S

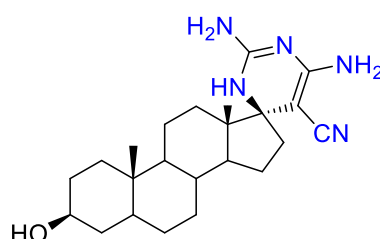
- d) Mediante reacciones *one-pot*, se sintetizó otro tipo de compuestos pirimidínicos esteroidales sobre el carbono 17 a partir de diferentes materias primas. Adicionalmente se realizaron estudios de *docking* molecular para determinar la energía de interacción HIV-gp-120-CD4.



e) Se estudió la posible actividad biológica mediante el programa PASS, y se realizó el *docking* molecular para determinar la energía de interacción con la enzima 6EEO. Los derivados tipo pirimidina se sintetizaron mediante una reacción en dominó Knoevenagel/Michael/ ciclocondensación. No fue posible realizar la caracterización de esta familia de compuestos debido a las condiciones sanitarias.



23a (12)
24a (13)
25a (14a)



23b (12)
24b (13)
25b (14a)

7.Desarrollo experimental

7.1 Materiales y métodos

7.1.1 Química

7.1.1.1 Métodos generales

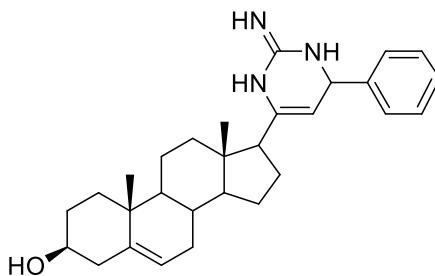
Las temperaturas de fusión se midieron por medio del método de capilar abierto en un fusiómetro Melt-temp y no se corrigieron. Los estudios de polarimetría se realizaron en un equipo Jasco P-2000. Los espectros de infrarrojo se determinaron en un equipo Nicolet FT-IR 380 ($\bar{\nu}_{\max}$ cm⁻¹). Los espectros de RMN se registraron en un instrumento Bruker Ascend (500 MHz para los espectros de ¹H y 125 MHz para los espectros de ¹³C). Para los desplazamientos químicos se reportan en ppm (δ) y los espectros fueron referenciados de acuerdo a los valores de las señales residuales de cada disolvente: CDCl₃ (7.26 y 77.16 ppm), CD₃OD (3.31 y 49.0 ppm) y piridina-d₅ (8.74, 7.58, 7.22 y 150.3, 135.9, 123.9 ppm) para RMN ¹H y ¹³C respectivamente. Las constantes de acoplamiento (*J*) se expresan en hercios (Hz). Las señales ¹H y ¹³C se asignaron utilizando experimentos de RMN 1D y 2D (DEPT, COSY, HSQC y HMBC). Los espectros de masas de alta y baja resolución se obtuvieron mediante EI, ESI y FAB usando un espectrómetro masas JEOL JMS-700 MStation. La cromatografía en columna se realizó usando gel de sílice Merck 60 (malla 230-400). La CCF se realizó usando placas comerciales de gel de sílice 60 F₂₅₄. Para su revelado se empleó luz UV de onda corta (254 nm, utilizando una lámpara modelo UVG-54, y su carbonización con 5% de H₂SO₄ (ac), 10% de vainillina en EtOH que contenía 1% de H₂SO₄ o con 0,1% de ninhidrina en EtOH.

7.2 Compuestos pirimidínicos de la serie no fusionada

7.2.1 Procedimiento general para la preparación de **3a-3c**

A una solución de **2** (0.1 g, 1 mmol) en BuOH seco (5.0 ml) se le añadió el 1,3-binucleófilo (tiourea, urea o clorhidrato de guanidina, 2,5 mmol) y una solución de *t*-BuOK 1 M en THF (0.99 ml, 8 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 8 h posteriormente se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (1 x 20 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró hasta sequedad. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (7: 3 hexano-AcOEt) para **3a-c** [58].

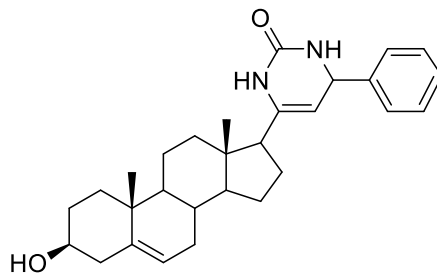
7.2.2 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-iminopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (**3a**)



Sólido blanco. Rendimiento 68%; p.f. 128 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (c 0.11, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3334 (C=NH), 3320 (OH), 2010 (C-H aromático), 1648 (C=N), 1044 (C-O, C-N), 800 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.57 (s, 3H, CH₃-18), 0.98 (s, 3H, CH₃-19), 3.52 (m, 1H, H-3), 5.27(d, 2H, $J_{5'-6'} = 15$ Hz, H-5'), 5.36 (dd, 1H, $J_{6,7\beta} = J_{6,7\alpha} = 5.2$ Hz, H-6), 6.79 (sa, 1H, H-3'), 6.59 (s, 1H, H-6'), 6.78 (sa 1H, NH-1'), 6.87 (sa, 1H, NH-2'), 7.27 (sa, NH-3'), 7.44 (m, 2H, H-3'' y H-5''), 7.46 (m, 2H, H-3'', H-5''), 7.95 (m, 2H, H-2'' y H-6''). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, CDCl₃) δ : 12.5 (C-18), 14.8 (C-11), 18.9 (C-19), 24.3 (C-15), 24.6 (C-2), 27.6 (C-4'), 31.5 (C-16), 32.1 (C-7), 33.6 (C-1), 36.1.(C-10), 36.8 (C-8), 37.6 (C-4), 41.8 (C-4), 44.5 (C-13), 49.8 (C-5), 56.4 (C-14), 57.5 (C-6'), 65.3 (C-17), 71.1 (C-3), 107.0 (C-5') 120.1

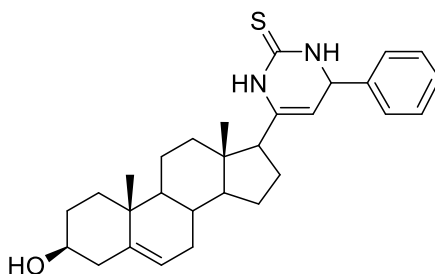
(C-6), 127.0 (C-2'' y C-6''), 128.6 (C-3'' y C-6''), 130.1 (C-4''), 137.8 (C-5'), 137.9 (C-1''), 131.5 (C-6'), 140.8 (C-4'), 140.9 (C-5), 162.5 (C-2'). HRMS-FAB: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₂₉H₃₉N₃O: 444.1015, encontrado: 444.3015 [58].

7.2.3 17β-(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-oxopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3β-ol (3b)



Sólido blanco. Rendimiento 56%; p.f. 108-110 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (c 0.11, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3320 (OH), 2011 (C-H aromático), 1643 (C=O), 1047 (C-O), 771 (C-N). **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.74 (s, 3H, CH₃-18), 0.82 (s, 3H, CH₃-19), 3.56 (m, 1H, H-3), 5.35 (d, 1H, $J_{6,7\beta} = J_{6,7\alpha} = 5.2$ Hz, H-6), 6.37 (d, 1H, $J_{5'-6'} = 16$ Hz, H-5'), 6.59 (d, 1H, $J_{6'-5'} = 16$ Hz, H-6'), 7.18 (d, 2H, $J = 8$ Hz, H-2'' y H-6''), 7.24 (m, 1H y H-4'), 7.31 (m, 2H, H-3'' y H-5''). **RMN** ¹³C (125.7 MHz, CDCl₃) δ: 12.3 (C-19), 13.6 (C-18), 15.9 (C-11), 21.6 (C-15), 23.5 (C-2), 27.6 (C-4'), 28.5 (C-16), 31.6 (C-7), 33.1 (C-1), 35.1 (C-10), 35.9 (C-8), 36.6 (C-4), 37.8 (C-12), 38.3 (C-13), 44.2 (C-5), 49.7 (C-14), 53.6 (C-6'), 60.6 (C-17), 71.6 (C-3), 120.5 (C-6), 126.1 (C-2'' and 6''), 127.6 (C-4''), 128.9 (C-3'' and 5''), 128.9 (C-5'), 131.5 (C-6'), 138.3 (C-1''), 138.3 (C-1'), 140.1 (C-5), 174.6.5 (C-2'). HRMS-FAB: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₂₉H₃₈N₂O₂: 446.2933, encontrado: 446.6350 [58].

7.2.2.3 17 β -(6'-fenil-1',3',6'-trihidro-2'-tioxopirimidín-4'-il)-androst-5-en-3 β -ol (3c)



Sólido blanco. Rendimiento 62%; p.f. 208-210 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -37.99 (c 0.11, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3324 (OH), 2015 (C-H aromático), 1059 (C=S), 755 (C-N).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.55 (s, 3H, CH₃-18), 0.93 (s, 3H, CH₃-19), 3.46 (m, 1H, H-3), 4.67 (sa, 1H, H-5'), 5.10 (sa, 1H, H-6'), 5.26 (d, 1H, $J_{6,7\beta} = J_{6,7\alpha} = 5.2$ Hz, H-6) 6.63 (sa, 1H, N-H3'), 7.00 (sa, 1H, N-H1'), 7.22 (m, 5H, H-aromático). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, CDCl₃) δ : 13.0 (C-18), 19.4 (C-19), 19.8 (C-11), 21.1 (C-15), 24.0 (C-2), 24.0 (C-4), 29.9 (C-16), 31.8 (C-7), 32.3 (C-1), 36.7 (C-15), 37.4 (C-10), 36.5 (C-8), 37.1 (C-4), 38.4 (C-12), 42.1 (C-13), 49.8 (C-9), 55.8 (C-17), 56.9 (C-6'), 71.6 (C-3), 99.9 (C-5'), 121.2 (C-6), 126.8 (C-2'',6''), 134.2 (C-4'), 129.0 (C-3', C5''), 134.2 (C-1''), 142.8 (C-4''), 140.9 (C-5), 174.3 (C-2'). HRMS-FAB: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₂₉H₃₈N₂OS: 462.2705, encontrado: 462.6960 [58].

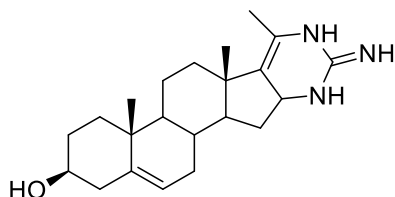
7.3 Compuestos pirimidínicos fusionados

7.3.1 Procedimiento general para la preparación de 7a-c.

El compuesto 6 (0.2 g, 0.63 mmol) se disolvió en una solución alcohólica de KOH (1%) y se añadió el 1,3-binucleófilo (tiourea, urea o clorhidrato de guanidina, 1.2 mmol). La mezcla se mantuvo a reflujo y se controló por CCF hasta la desaparición de la material de partida. Luego, se agregó hielo triturado y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (2 x 20 ml) y agua (1 x 20 ml), se secó

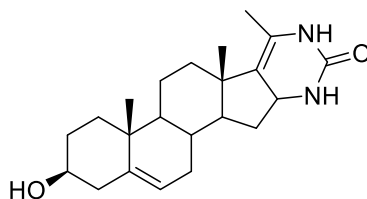
sobre MgSO_4 y se concentró hasta sequedad al vacío. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (7: 3 hexano-AcOEt) [58].

7.3.3.2 1',3'-dihidro-2'-imino-4'-metilpirimidín-(6',5':16,17)-androst-5-en-3 β -ol (**7a**)



Sólido blanco. Rendimiento 58%; p.f. 108-110 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (*c* 0.11, CHCl_3). IR (cm⁻¹): 3329 (OH), 3187 (C-N), 1709 (C=N), 1042 (C-O), 750 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.93 (s, 3H, CH_3 -18), 1.18 (s, 3H, CH_3 -19), 1.91 (s, 3H, CH_3 -4'), 3.58 (m, 1H, H-3), 3.98 (m, 1H, H-16), 5.30 (d, 1H, J_{6-7} = 4 Hz, H-6), 6.14 (s, 1H, NH-1'), 6.81 (s, 1H, NH-3'), 7.29 (sa, 1H, NH-2'). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, CDCl_3) δ : 14.0 (C-4''), 16.9 (C-19), 19.2 (C-18), 20.8 (C-11), 29.3 (C-1), 29.6 (C-7), 31.4 (C-8), 33.9 (C-15), 35.9 (C-12), 36.6 (C-10), 41.8 (C-4), 42.1 (C-12), 43.5 (C-13), 50.2 (C-9), 53.2 (C-16), 55.2 (C-14), 71.3 (C-3), 120.8 (C-6), 120.8 (C-4'), 132.2 (C-17), 141.2 (C-5), 174.5 (C-2'). HRMS-FAB: (*m/z*) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}$: 355.5624, encontrado: 356.5260 [58].

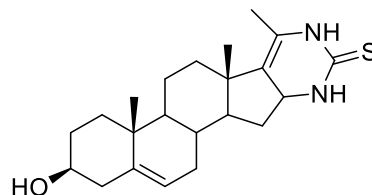
7.3.3.3 1',3'-dihidro-4'-metil-2'-oxopirimidín-(6',5':16,17)-androst-5-en-3 β -ol (**7b**)



Sólido blanco. Rendimiento 52%; p.f. 163-164 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (*c* 0.11, CHCl_3). IR (cm⁻¹): 3307 (OH), 1645 (C=O), 1047 (C-O), 771 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 (s,

3H, CH₃-18), 0.97 (s, 3H, CH₃-19), 1.78 (s, 3H, CH₃-4'), 3.45 (m, 1H, H-3), 4.35 (dd, 1H, $J_{16-15\beta} = J_{16-15\alpha} = 8$ Hz, H-16), 5.35 (d, 1H, $J = 4$ Hz, H-6), 5.75 (s, 1H, NH-1'), 6.79 (s, 1H, NH-3'). **RMN** ¹³C (125.7 MHz, CDCl₃) δ : 15.2 (C-4'), 16.4 (C-19), 19.4 (C-18), 20.4 (C-11), 31.1 (C-1), 31.2 (C-7), 31.6 (C-8), 32.6 (C-15), 35.5 (C-12), 36.2 (C-10), 36.5 (C-4), 36.8 (C-12), 41.6 (C-13), 49.7 (C-9), 52.3 (C-16), 54.5 (C-14), 65.6 (C-3), 120.6 (C-6), 121.4 (C-4'), 123.0 (C-17), 140.8 (C-5), 157.4 (C-2'). **HRMS-FAB**: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₂₂H₃₂N₂OS: 356.2264, encontrado: 356.5110 [58].

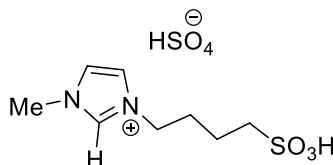
7.3.3.4 1',3'-dihidro-4'-metil-2'-tioxopirimidín-(6',5':16, 17)-androst-5-en-3 β -ol (7c)



Sólido blanco. Rendimiento 65%; p.f. 208-210 °C; $[\alpha]_D^{25} - 37.99$ (c 1.02, CHCl₃). **IR** (cm⁻¹): 3320 (OH), 1201 (C=S), 1042 (C-O), 750 (C-N). **RMN** ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.89 (s, 3H, CH₃-18), 1.02 (s, 3H, CH₃-19), 1.87 (s, 3H, CH₃-4'), 3.46 (m, 1H, H-3), 4.20 (dd, 1H, $J_{16-15\alpha} = J_{16-15\beta} = 8$ Hz, H-16), 5.28 (d, 1H, $J = 4$ Hz, H-6), 6.87 (s, 1H, H-1'), 7.87 (s, 1H, H-3'). **RMN** ¹³C (125.7 MHz, CDCl₃) δ : 15.2 (C-4'), 16.4 (C-19), 19.5 (C-18), 20.6 (C-11), 31.2 (C-1), 31.3 (C-7), 31.4 (C-8), 32.4 (C-15), 35.8 (C-12), 36.6 (C-10), 37.0 (C-4), 42.1 (C-12), 43.7 (C-13), 49.5 (C-9), 53.2 (C-16), 54.5 (C-14), 71.3 (C-3), 120.8 (C-6), 121.5 (C-4'), 122.6 (C-17), 140.8 (C-5), 176.2 (C-2'). **HRMS-FAB**: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₂₂H₃₂N₂OS: 372.2235, encontrado: 372.2269 [58].

7.4 Síntesis de compuestos espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona

7.4.1 Síntesis del bisulfato de 1-metil-3-(4'-sulfobutil)-imidazolio (liquido iónico)



RMN ^1H (500 MHz, D_2O) δ : 1.47 (m, 2H, H-2'), 1.75 (m, 2H, H-3'), 2.68 (2H, t, $J=5$ Hz y $J=10$ Hz, H1'), 3.63 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-N}$), 3.98 (t, 2H, $J=5$ Hz y $J=10$ Hz, H-4'), 7.18 (s, 1H, H-4), 7.18 (s, 1H, H-4), 7.23 (s, 1H, H-5), 8.46 (s, 1H, H-2) ppm.

RMN ^{13}C (125 MHz, D_2O) δ : 20.7 (C-2'), 27.9 (C-3'), 35.5 ($\text{CH}_3\text{-N}$), 48.7 (C-1'), 49.9 (C-4'), 121.9 (C-4), 123.5 (C-5), 135.7 (C-2) ppm.

7.4.2 Procedimiento general para la obtención de espiro dehidroquinolin-4(1H)-ona

Método A

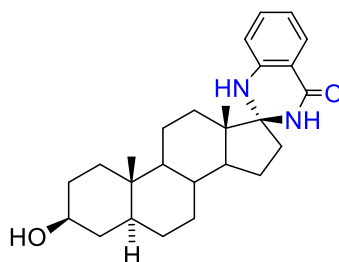
En un matraz de dos bocas se adicionó la materia prima “*trans*-andosterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona bencilada”; (0.73 mmol) en CH_3CN (20.0 mL), una vez disuelta la materia prima, se agregó la 2-aminobenzamida (0.23 g, 1.75 mmol), la mezcla se agitó hasta formar una disolución homogénea y finalmente se añadió $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ gota a gota (0.78 g, 5.54 mmol). La mezcla de reacción se llevó a reflujo, y se mantuvo durante 30 h en agitación y bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se monitoreó por CCF [57].

Una vez que se observó la desaparición de materia prima, se adicionó hielo triturado, extrajo con AcOEt, se neutralizó con K_2CO_3 y se lavó con agua destilada. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna, empleando un sistema 8:2 hexano:AcOEt.

Método B

En un matraz de 100 mL, se pesó el LI (liquido iónico) (0.203 mmol) y se disolvió en CH_3CN (20 mL), posteriormente se agregó la 2-aminobenzamida (0.20 g, 1.70 mmol), se mantuvo en agitación hasta disolver completamente. A continuación se adicionó la materia prima (*trans*-andosterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona bencilada); (0.2 g, 0.65 mmol), se mantuvo en agitación hasta formar una mezcla homogénea, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo a una atmosfera inerte, la mezcla de reacción fue monitoreada por CCF. Una vez que se observó la desaparición de materia prima, la reacción se detuvo al adicionar hielo triturado, se extrajo con AcOEt, se neutralizó con K_2CO_3 y finalmente se lavó con agua destilada. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna, empleando un sistema 8:2 hexano:AcOEt.

7.4.2 (17S)-3 β -hidroxiespiro[5 α -androstan-17,2'-dihidroquinazolin]-4'(1H)-ona (15a)

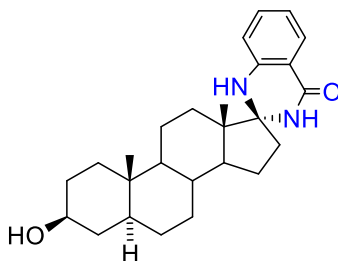


Sólido blanco. Rendimiento 42%; p.f.: 115-117 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -15.28 (c 1.17, $CHCl_3$ -MeOH). IR (cm^{-1}): 3304 (OH), 3300 (N-H), 2926 (C-H alifático), 2115(C-H aromático), 1633

(C=O), 1026 (C-O), 750 (C-N). **RMN ^1H** (500 MHz, Piridina- d_5) δ : 0.56 (td, 1H, $J_{9-10}=10$ Hz, $J_{9-10\alpha}=5$ Hz, H-9), 0.75 (s, 3H, H-19), 0.98 (s, 3H, H-18), 1.32 (m, 1H, H-8), 1.56 (m, 1H, H-7b), 1.65 (m, 1H, H-7a), 1.70 (m, 1H, H-14), 2.03 (m, 1H, H-16b), 2.23 (m, 1H, H-15), 2.47 (m, 1H, H-16a), 3.84 (m, 1H, H-3), 6.82 (dd, 1H, $J_{6'-7}=10$ Hz, $J_{6'-5'}=5$ Hz, H-6'), 7.05 (d, 1H, $J_{8'-7'}=10$ Hz, H-8'), 7.36 (dd, 1H, $J_{7'-8'}=10$ Hz, $J_{7'-6'}=5$ Hz, H-7'), 8.40 (d, 1H, $J_{5'-6'}=10$ Hz, H-5').

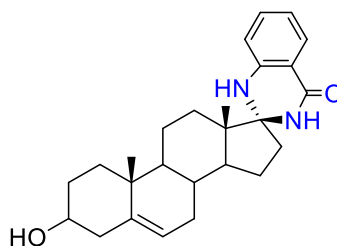
RMN ^{13}C (125.7 MHz, Piridina- d_5) δ : 12.2 (C-19), 14.4 (C-18), 20.8 (C-11), 22.8 (C-4), 28.8 (C-6), 31.9 (C-2), 32.2 (C-12), 33.1 (C-7), 35.6 (C-10), 36.1 (C-8), 37.1 (C-1), 39.0 (C-16), 39.1 (C-15), 45.0 (C-5), 49.0 (C-14), 51.9 (C-13), 54.1 (C-9), 70.4 (C-3), 80.4 (C-17), 113.2 (C-8'), 115.4 (C-8a), 116.3 (C-6'), 128.1 (C-5'), 133.7 (C-7'), 148.7 (C-4a), 164.6 (C-4'), HRMS-FAB: (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$: 406.5860, encontrado: 406.2777.

**7.4.3 (17R)-3β-hidroxi-espiro[5α-androstan-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona
(15b)**

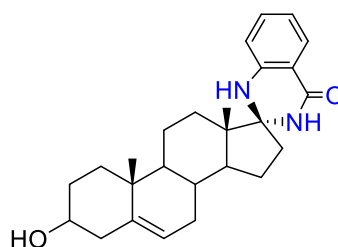


Sólido blando. Rendimiento 48%; p.f. 187-189 °C; $[\alpha]_D^{25} +26.75$ (c 1.12, $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$). IR (cm^{-1}): 3294 (OH), 2930 (N-H), 2834 (C-H alifático), 2118 (C-H aromático), 1636 (C=O), 1022 (C-O), 750 (C-N). **RMN ^1H** (500 MHz, Piridina- d_5) δ : 8.37 (d, 1H, $J_{5'-6'} = 5$ Hz, H-5'), 7.34 (dd, 1H, $J_{7'-8'} = 10$ Hz, $J_{7'-6'} = 5$ Hz, H-7'), 6.98 (d, 1H, $J_{8'-7'} = 10$ Hz, H-8'), 6.84 (dd, 1H, $J_{6'-7'} = 10$ Hz, $J_{6'-5'} = 5$ Hz, H-6'), 3.85 (m, 1H, H-3), 2.29 (m, 2H, H-16a, H-16b), 1.79 (m, 1H, H-15a), 1.78 (m, 1H, H-7a), 1.75 (m, 1H, H-14), 1.56 (m, 1H, H-16b), 1.47 (m, 1H, H-7b), 1.29 (m, 1H, H-8), 0.96 (s, 3H, H-19), 0.76 (s, 3H, H-18), 0.43 (td, 1H, $J_{9-11\alpha} = 10$ Hz, $J_{9-16\beta} = 5$ Hz, H-9). **RMN ^{13}C** (125.7 MHz, Pyd5) δ : 164.8 (C-4'), 148.4 (C-4a), 133.4 (C-7'), 128.0 (C-5'), 116.8 (C-6'), 116.4 (C-8a), 113.6 (C-8'), 80.7 (C-17), 70.3 (C-3), 54.7 (C-9), 51.1 (C-13), 48.5 (C-14), 44.8 (C-5), 39.0 (C-15), 38.4 (C-16), 37.0 (C-1), 36.1 (C-8), 35.5 (C-10), 33.4 (C-7), 32.2 (C-12), 31.8 (C-2), 28.8 (C-6), 22.8 (C-4), 21.0 (C-11), 15.1 (C-18), 12.2 (C-19). HRMS-FAB: (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$: 406.5860, encontrado: 406.2777.

**7.4.4 17S)-3β-hidroxi-espiro[androstan-5-en-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona
(16a)**

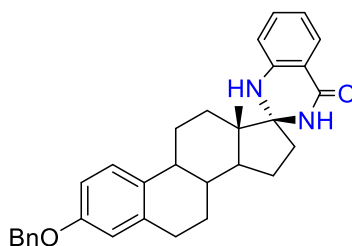


Sólido blanco. Rendimiento 38%; p.f. 163-165 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -37.99 (*c* 1.01, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3318 (OH), 2926 (N-H), 2099 (C-H aromático), 1675 (C=O), 1054 (C-O), 773 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, Piridina-d₅) δ: 0.77 (s, 3H, H-19), 1.06 (m, 1H, H-9), 1.29 (s, 3H, H-18), 1.06 (m, 1H, H-9), 1.45 (m, 1H, H-8), 1.49 (m, 1H, H-8), 1.92 (m, 1H, H-14), 2.03 (m, 1H, H-12b), 2.09 (m, 1H, H-15b), 2.18 (m, 1H, H-12a), 2.33 (m, 1H, H-15a), 2.62 (m, 2H, H-4a, H-4b), 3.25 (ddd, 1H, *J*_{16b-16a} = 5 Hz, *J*_{16a-15b} = 10 Hz, *J*_{16a-15a} = 15 Hz, H-16b), 3.38 (ddd, 1H, *J*_{16a-16b} = 5 Hz, *J*_{16a-15b} = 10 Hz, *J*_{16a-15a} = 15 Hz, H-16a), 5.34 (m, 1H, H-6), 3.85 (m, 1H, H-3), 7.44 (dd, 1H, *J*_{6'-5'} = 5 Hz, *J*_{6'-7'} = 10 Hz, H-6'), 7.73 (dd, 1H, *J*_{7'-8'} = 5 Hz, *J*_{7'-6'} = 10 Hz, H-7'), 7.93 (d, 1H, *J*_{8'-7'} = 5 Hz, H-8'), 8.59 (d, 1H, *J*_{5'-6'} = 5 Hz, H-5'). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, Py-d₅) δ: 17.7 (C-19), 19.2 (C-18), 22.4 (C-11), 26.0 (C-15), 26.8 (C-13), 32.3 (C-2), 33.0 (C-7), 33.0 (C-7), 35.6 (C-16), 36.1 (C-12), 36.5 (C-8), 36.9 (C-10), 37.4 (C-1), 42.9 (C-4), 46.8 (C-14), 49.3 (C-9), 70.9 (C-3), 84.5 (C-17), 120.7 (C-6), 122.0 (C-8a), 125.9 (C-6'), 126.4 (C-5'), 127.1 (C-8'), 134.2 (C-7'), 141.1 (C-5), 158.7 (C4a), 162.8 (C-17),

7.4.5 (17*R*)-3β-hidroxi-espiro[androst-5-en-17,2'-dehidroquinazolin]-4' (1H) (**16b**)

Sólido blanco. Rendimiento 52%; p.f. 208-210 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -37.99 (*c* 1.03, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3327 (OH), 2941 (N-H), 2635 (C-H alifático), 2106 (C-H aromático), 1676 (C=O), 1019 (C-O), 753 (C-N). **RMN ¹H** (500MHz, Piridina-d₅) δ: 0.97 (s, 3H, H-19), 1.12 (m, 1H, H-9), 1.40 (m, 1H, H-14), 1.55 (s, 3H, H-18), 1.97 (m, 1H, H-8), 2.12 (m, 1H, H-7b), 2.36 (m, 1H, H-7a), 2.60 (m, 2H, H-4a, H-4b), 2.61 (m, 2H, H-12a, H-12b), 3.01 (ddd, 1H, $J_{H-H} = 5$ Hz, $J_{H-H} = 10$ Hz, $J_{H-H} = 15$ Hz, H-16b), 3.34 (ddd, 1H, $J_{H-H} = 5$ Hz, $J_{H-H} = 10$ Hz, $J_{H-H} = 15$ Hz, H-16a), 5.32 (m, 1H, H-6), 3.86 (m, 1H, H-3), 7.46 (dd, 1H, $J_{H-H'} = 5$ Hz, $J_{H-H'} = 10$ Hz, H-6'), 7.76 (dd, 1H, $J_{H'-H'} = 10$ Hz, $J_{H'-H'} = 5$ Hz, H-7'), 7.97 (d, 1H, $J_{8'-7'} = 10$ Hz, H-8'), 8.61 (d, 1H, $J_{5'-6'} = 10$ Hz, H-5'). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, Piridina-d₅) δ: 19.23 (C-19), 20.3 (C-11), 23.9 (C-18), 24.6 (C-15), 32.3 (C-2), 31.9 (C-8), 32.3 (C-7), 33.7 (C-16), 34.8 (C-12), 37.1 (C-10), 37.3 (C-1), 43.0 (C-4), 49.7 (C-9), 50.7 (C-14), 71.0 (C-3), 82.4 (C-17), 120.7 (C-6), 122.0 (C-8a), 125.8 (C-6'), 126.4 (C-5'), 127.4 (C-8'), 134.1 (C-7'), 141.3 (C-5), 158.4 (C4a), 162.8 (C-17) ppm.

7.4.6 (17S)-3-benciloxi-espiro[estra-1,3,5(10)-trien-17,2'-dehidroquinazolin]-4'(1H)-ona (17)



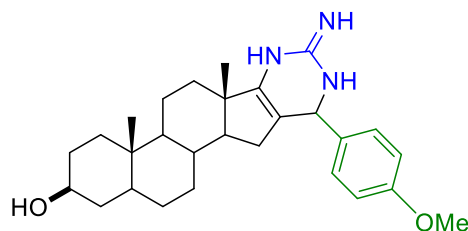
Sólido blanco. Rendimiento 47%; p.f. 136-138 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -14.51 (*c* 1.05, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3356 (OH), 2935 (N-H), 2078 (C-H aromático), 1697 (C=O), 1092 (C-O), 683 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, CD₃OD) δ : 0.88 (s, 3H, H-18), 1.31 (m, 1H, H-11), 1.36 (m, 1H, H-12b), 1.36 (m, 1H, H-15b), 1.39 (m, 1H, H-8), 1.62 (m, 1H, H-12a), 1.63 (m, 1H, H-14), 1.91 (m, 2H, H-7), 2.07 (ddd, 1H, $J_{H-H}=15$ Hz, $J_{H-H}=10$ Hz, $J_{H-H}=5$ Hz, H-16b), 2.15 (m, 1H, H-16a), 2.16 (m, 1H, H-9), 2.85 (m, 2H, H-6a y H-b), 5.02 (s, 2H, CH₂Ph), 6.65 (d, 1H, $J_{4,2}=5$ Hz, H-4), 6.75 (m, 1H, H-2), 6.76 (m, 1H, H-6''), 7.08 (d, 1H, $J=5$ Hz, H-1), 7.27 (m, 1H, H-5''), 7.46 (m, 3H, Ar-H_o y Ar-H_p), 7.74 (m, 1H, Ar-H_o). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, CD₃OD) δ : 14.8 (C-18), 22.4 (C-15), 26.5 (C-11), 27.5 (C-7), 29.9 (C-6), 33.0 (C-12), 39.0 (C-16), 39.5 (C-8), 43.5 (C-9), 47.8 (C-14), 47.8 (C-14), 50.9 (C-13), 70.2 (CH₂-Ph), 80.6 (C-17), 112.5 (C-6'), 113.9 (C-8'), 115.1 (C-4), 115.2 (C-8a), 118.5 (C-2), 126.5 (C-1), 127.7 (x2) (Ar-Co), 128.0 (Ar-Cp), 128.1 (5'), 128.8 (x2) (Ar-Cm), 132.7 (C-10), 134.3 (C-7'), 137.4 (Ar-Cipso), 138.1 (C-5), 147.0 (C-4a), 157.0 (C-3), 165.8 (C-4') ppm. HRMS-FAB: (m/z) [M+H]⁺ calculado C₃₂H₃₄N₂O₂: 478.2620, encontrado: 478.6360.

7.5 Síntesis de dehidropirimidinas.

7.5.1 Procedimiento general

En un matraz de se adicionó la materia prima “*trans*-andosterona, *trans*-dehidroandrosterona y estrona bencilada” (0.228 mmol, 0.100 g) en una solución de KOH/ EtOH, seguida del benzaldehído (0.688 mmol, 0.073 g), la mezcla de reacción se mantuvo en agitación hasta disolver completamente aproximadamente durante 30 minutos. Posteriormente se añadió el 1,3-binucleófilo correspondiente (guanidina, urea ó tiourea) (0.172 mmol, 0.0131 g). La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 10 h, se monitoreo mediante CCF. Posteriormente se adicionó hielo triturado, posteriormente se extrajo con DCM, se lavó con salmuera (20 ml x 2), y agua (20 mLx2). El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna con un sistema 85:15 (hexano: AcOEt).

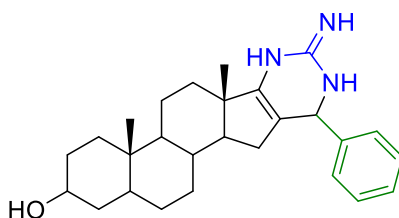
7.5.2 2'-imino-1',3',6'-trihidro-6'-(4-metoxi-phenilpirimidín)-[4',5':16,17]-5 α -androst-5-3 β -ol (18a)



Sólido blanco. Rendimiento 62%; $[\alpha]_D^{25}$ -0.95 (*c* 0.10, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3330 (C=NH), 3318 (OH), 2940 (C-H alifático), 2015 (C-H aromático), 1645 (C=N), 1042 (C-O, C-N), 798 (C-N). **RMN ¹H** (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.78 (m, 1H, H-9), 0.88 (s, 3H, CH₃-19), 1.04 (s, 3H, CH₃-18), 2.84 (s, 1H, H-6'), 3.59 (m, 1H, H-3), 3.86 (s, 3H, Me-O), 6.98 (d, 2H, J_{Ho-Hm} = 10 Hz, Ar-H_o), 7.78 (d, 2H, J_{Hm-Ho} = 10Hz, Ar-H_m). **RMN ¹³C** (125.7 MHz, CDCl₃) δ : 12.1 (C-19), 16.8 (C-18), 17.3 (C-4), 20.5 (C-15), 28.1 (C-2), 31.3 (C-7), 32.6 (C-12), 34.0 (C-10), 35.5 (C-1), 36.5 (C-2), 37.8 (C-11), 44.6 (C-13), 45.5 (C-5), 55.0 (C-9), 55.3 (Me-O),

70.8 (C-3), 113.5 (Ar-C_o), 119.3 (C-5'), 129.6 (Ar-C_m), 148.8 (C-4'), 161.9 (Ar-C_p), 183.8 (C-2'). HRMS-FAB: (*m/z*) [M+H]⁺ calculado C₂₈H₃₉N₃O₂: 444.1015, encontrado: 444.3015.

7.5.3 2'-imino-1',3',6'-trihidro-6'-phenilpirimidín-[4',5':16,17]-5α-androst-3β-ol (**19a**)



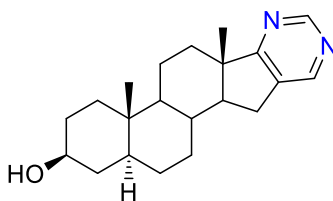
Sólido blanco. Rendimiento 58%; $[\alpha]_D^{25}$ -0.98 (*c* 0.11, CHCl₃). IR (cm⁻¹): 3330 (C=NH), 3318 (OH), 2940 (C-H alifático), 2015 (C-H aromático), 1645 (C=N), 1042 (C-O, C-N), 798 (C-N). RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.77 (m, 1H, H-9), 0.88 (s, 3H, CH₃-19), 1.05 (s, 3H, CH₃-18), 2.84 (s, 1H, H-6'), 3.56 (m, 1H, H-3), 7.46 (m, 3H, Ar-H_m y Ar-H_p), 7.74 (m, 2H, H_o). RMN ¹³C (125.7 MHz, CDCl₃) δ: 12.3 (C-19), 17.1 (C-18), 17.5 (C-11), 20.7 (C-15), 28.4 (C-6), 29.7 (C-2), 31.1 (C-7), 32.8 (C-12), 35.6 (C-8), 36.7 (C-10), 37.7 (C-1), 37.7 (C-4), 44.9 (C-5), 46.0 (C-13), 49.6 (C-14), 54.7 (C-9), 55.5 (C-6'), 70.5 (C-3), 120 (C-5'), 128.3 (Ar-C_m), 128.4 (Ar-C_o), 129.6 (Ar-C_p), 137.7 (C-4'), 160.6 (Ar-C_p), 184.2 (C-2'). HRMS-FAB: (*m/z*) [M+H]⁺ calculado C₂₇H₃₇N₃O: 419.61, encontrado: 419.29.

7.6 Síntesis de derivados pirimidícos.

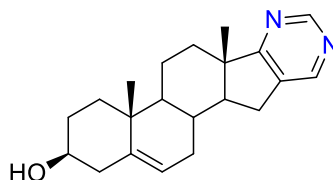
7.6.1 Procedimiento general

En un matraz de dos bocas de 100 mL, se adicionó $\text{HC}(\text{OEt})_3$ (0.864 mmol, 0.126 g) y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}$ (0.576 mmol, 0.081 g) en tolueno (5mL), se mantuvo en agitación durante 15 minutos. Posteriormente, se adicionó la materia prima “*trans*-andosterona, *trans*-dehidroandrosterona ó estrona bencilada” (0.228 mmol, 0.100 g), en seguida se adicionó NH_4OAc (0.288 mmol, 0.022 g). La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo y se monitoreo por CCF hasta consumir la materia prima, la reacción se lavó con 10 ml de solución de salmuera. El crudo de reacción se purificó en un sistema 6:4 (hexano: AcOEt).

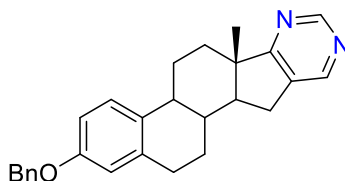
7.6.2 pirimidín-[4',5':16,17]-5 α -androst-3 β -ol (20)



Sólido blanco. Rendimiento 52%; p.f: 128 °C; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (*c* 0.10, CHCl_3). IR (cm^{-1}): 3315 (OH), 1643 (C=N), 1042 (C-O, C-N), 793 (C-N). **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.76 (m, 1H, H-9), 0.78 (s, 3H, CH_3 -19), 0.87 (s, 3H, CH_3 -18), 1.22. (m, 1H, H-14), 2.08 (m, 1H, H-15a), 2.45 (m, 1H, H-15b), 5.59 (m, 1H, H-3), 7.49 (m, 1H, H-4'), 7.82 (m, 1H, H-2'). **RMN ^{13}C** (125.7 MHz, CDCl_3) δ : 11.7 (C-19), 13.7 (C-18), 20.2 (C-11), 21.8 (C-15), 28.4 (C-6), 30.2 (C-12), 30.7 (C-2), 31.6 (C-7), 34.8 (C-10), 35.2 (C-8), 36.0 (C-15), 39.7 (C-4), 41.4 (C-5), 47.7 (C-13), 54.1 (C-9), 55.1 (C-14), 70.7 (C-3), 125 (C-6'), 128.3 (C-4'), 130.1 (C-2'), 132.5 (C-5'). HRMS-FAB: (*m/z*) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}$: 419.61, encontrado: 419.29.

7.6.3 pirimidín-[4',5':16,17]-androst-5-en-3β-ol (**21**)

Sólido blanco. Rendimiento 52%; $[\alpha]_D^{25}$ -0.96 (c 0.09, CHCl_3). IR (cm^{-1}): 3315 (OH), 1661 ($\text{C}=\text{C}$), 1639 ($\text{C}=\text{N}$), 793 ($\text{C}-\text{N}$). **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.87 (s, 3H, CH_3 -19), 1.01 (s, 3H, CH_3 -18), 2.91 (m, 1H, H-15a), 2.95 (m, 1H, H-15b), 3.53 (m, 1H, H-3), 5.48 (m, 1H, H-6), 7.52 (m, 1H, H-4'), 7.87 (m, 1H, H-2'). **RMN ^{13}C** (125.7 MHz, CDCl_3) δ : 15.6 (C-18), 19.1 (C-19), 21.9 (C-11), 28.0 (C-15), 31.9 (C-12), 32.9 (C-7), 36.5 (C-10), 36.5 (C-8), 37.0 (C-15), 37.3 (C-4), 37.9 (C-13), 53.2 (C-9), 55.1 (C-14), 70.2 (C-3), 121.7 (C-6), 130.0 (C-4'), 138.8 (C-2'), 140.6 (C-6), 142.7 (C-5'). HRMS-FAB: (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}$: 419.61, encontrado: 419.29.

7.6.4 3-benciloxi-pirimidín-[4',5':16,17]-estra-1,3,5(10)-trieno (**22**)

Sólido blanco. Rendimiento 54%; IR (cm^{-1}): 2098 ($\text{C}-\text{H}$ aromáticos), 1659 ($\text{C}=\text{C}$), 1639 ($\text{C}=\text{N}$), 790 ($\text{C}-\text{N}$). **RMN ^1H** (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 (s, 3H, CH_3 -18), 1.44 (m, 2H, H-7), 1.52 (m, 1H, H-14), 1.54 (m, 1H, H-15), 1.96 (m, 2H, H-12), 2.17 (m, 1H, H-9), 2.33 (m, 1H, H-11), 2.85 (m, 2H, H-6), 4.96 (s, 2H, CH_2 -Bn), 6.85 (d, 1H, J = 10.0 Hz, H-4), 7.27 (m, 1H, HAr-H_p), 7.32 (m, 1H, Ar-H_m), 7.38 (m, 1H, Ar-H_o), 7.45 (m, 1H, H-4'),

7.65 (m, 1H, H-2'). **RMN** ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) δ : 13.3 (C-18), 21.0 (C-15), 25.4 (C-11), 26.0 (C-7), 29.1 (C-6), 31.0 (C-12), 35.3 (C-16), 37.8 (C-8), 43.4 (C-9), 47.4 (C-13), 49.8 (C-14), 69.3 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$), 111.8 (C-2), 114.3 (C-4), 125.1 (C-1), 126.9 (Ar-C_o), 127.3 (Ar-C_p), 128.0 (Ar-C_m), 130.9 (C-4'), 131.7 (C-10), 136.7 (Ar-C_{ipso}), 137.2 (C-5), 138.2 (C-2'), 143.9 (C-5'), 156.3 (C-3).

8. Bibliografía

- [1] Organización mundial de la salud (OMS), (2017), (2017) <http://www.who.int/features/factfiles/cancer/es/>. Actualizado en febrero del 2017. Consultado el 21 de junio de 2021, 2:29 pm.
- [2] Mishra, R.; Jha, K.K.; Kumar, S.; Tomer, I. *Der Pharma Chem.* **2011**, 3, 38.
- [3] Vataku, E.; Smith, D. T.; Njardarson, J. T. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 10257.
- [4] (a) Gmelin, R.; Seyler, Z. H. *Physiol. Chem.* **1959**, 316, 164. (b) Bell, E. A.; Foster, R. G. *Nature.* **1962**, 194, 91.
- [5] Jansen, B. C. P.; Donath, W. F., *Chem. Weekblad.* **1926**, 23, 201.
- [6] Tanaka. F.; Takeuchi, S.; Tanaka, N.; Yonehara, H.; Umezawa, Sumiki, J. *Antibiot. A.* **1961**, 14, 161.
- [7] (a) Lin, Y. -L.; Huang, R. -L.; Chang, C. -M.; Kuo, Y. -H. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 982. (b) Gerlink, R. G. S.; Braekman, J. C.; Daloze, D.; Bruno, I.; Riccio, R.; Rogeau, D.; Amade, P. *J. Nat. Prod.* **1992**, 55, 528.
- [8] (a) Ohtani, I.; Moore, R. E.; Runnegar, M. T. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7941. (b) Banker, R.; Teltsch, B.; Sukenik, A.; Carmeli, S. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 387.
- [9] Kamal, A.; Tamboli, J. R.; Nayak, V. L.; Adil, S. F.; Vishnuvardhan, M. V. P. S.; Ramakrishna, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 3208.
- [10] Kamal, A.; Tamboli, J. R.; Nayak, V. L.; Adil, S. F.; Vishnuvardhan, M. V. P. S.; Ramakrishna, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 3208.
- [11] Peng-Ju, C; Ang, Y.; Yi-Fei G.; Xiao-Song Z.; Kun-Peng, S.; Deng-Qi, X.; Peng, H.; Teng-Fei, J.; Qiu-Rong, Z.; Hong-Min, Liu. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 2741.
- [12] Lagoja, I. M. *Chem. Biodivers* **2005**, 2, 1.
- [13] Shamsuzzaman, A. M.; Dar, Z.; Yaseen, K.; Alam, A.; Hussain, M. A.; Gattoo, J. *J. Mol. Struct.* **2013**, 1045, 62.

- [14] Mohareb, R. M.; Al-Omran, F.; Azzam, R. A. *Steroids*, **2014**, 84, 46.
- [15] Ali, A.; Asif, M.; Alam, P.; Alam, M. A.; Sherwani, R. H.; Khan, S., Shamsuzzaman, A. *Bioorg. Chem.* **2017**, 73, 83.
- [16] Shamsuzzaman, A. M.; Dar, S.; Tabassum, M.; Zaki, Y.; Khan, A.; Sohail, M. A.; Gatoo, C. R. *Chem.* **2014**, 17, 359.
- [17] Gregorić, T.; Sedić, M.; Grbčić, P.; Paravić, A. T.; Pavelić, S. K.; Cetina, M.; Vianello, R.; Raić-Malić, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 125, 1247.
- [18] Yu, B.; Shi, X.-J.; Zheng, Y.-F.; Fang, Y.; Zhang, E.; Yu, D.-Q.; Liu, H.-M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 69, 323.
- [19] Dar, A.; Rah, M.; Mir, B.; Nabi, S.; Shamsuzzaman, R.; Gatoo, M. A.; Mashrai, A.; Khand. Y. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, 111, 52.
- [20] Handratta, V. D.; Vasaitis, T. S.; Njar, V. C. O.; Gediya, L. K.; Kataria, R.; Chopra, P.; Newman, D.; Farquhar, Jr., R.; Guo, Z.; Qiu, Y.; Brodie, A. M. H. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 2972.
- [21] Abdalla, M. M.; Al-Omarb, M. A.; Al-Salahi, R. A.; Amrc, A.-G. E.; Sabrye N. M. *J. Biol. Macromol.* **2012**, 51, 56.
- [22]. Abdelhalim, M. M.; El-Saidi, M. M.T.; Rabie, S. T.; Elmegeed, G. A. *Steroids*. **2007**, 72, 459.
- [23] Matsumoto, T.; Watanabe, M.; Mataka, S.; Thiemann, T. *Steroids*. **2003**, 68, 751.
- [24] Barthakur, M. G.; Borthakur, M.; Devi, P.; Saikia, A.; Boruah, R. C. *Synlett*. **2007**, 223.
- [25] Addelhalim, M. M.; El-Saidi, M. M. T.; Rabie, S. T.; Elmeggeda, G. A. *Steroids*. **2007**, 72, 459.
- [26] Mohamed, N. R.; Abdelhalim, M. M.; Khadrawy, Y. A.; Elmegeed. G. A. *Steroids*. **2012**, 77, 1469.
- [27] Dutta, M.; Gogoi, J.; Shekarrao, K.; Goswami, J.; Gogoi, S.; Boruah, R. C. *Synthesis*. **2012**, 44, 2614.
- [28] Nedad, A. A.; Nermien, M.S.; Ashraf, M.M.; Abdulla. M. M.; Monatsh, M. *Chem.* **2007**, 138, 715.

- [29] Ahmed, F. A. S.; Abdulla, M. M.; Amr, A. E.; Azza, A.H. *Monatsh, M. Chem.* **2007**, *138*, 1019.
- [30] Hammam, A. G.; Fahmy, A. F. M.; Amr, A. E.; Mohamed, A. M. *Indian J. Chem.* **2003**, *42*, 1985.
- [31] Snider, B. B.; Shi, Z. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3828.
- [32] Atwal, K. S.; Swanson, B. N.; Unger, S.; Floyd, D. M.; Moreland, S.; Hodberg, A.; Reilly, B. C. O. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 806.
- [33] Pinner, A.; *Dtsch, B. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2519.
- [34] Elmegeed, G.A.; Ahmed, H. H.; Hussein, J. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1283.
- [35] Barthakur, M.G.; Gogoi, S.; Dutta, M.; Boruah, R.C. *Steroids.* **2009**, *74*, 730.
- [36] Lin, M.; Chen, Q.-Z.; Zhu, Y.; Chen, X.-L.; Cai, J.-J.; Pan, Y.-M.; Zhan, Z.-P. *Synlett.* **2011**, 1179.
- [37] a) Jiao, Y.; Ho, S., Cho, C. *Synlett.* **2015**, *26*, 1081. b) Romero-López, A.; Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Merino-Montiel, P.; Vega Baez, J. L *Steroids*, 2014, *87*, 86.
- [38] Kempe, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 12804.
- [39] Chebanor, A.V.; Desenko, M.S.; Gurley, T.W. *Springer*; **2008**, 61.
- [40] Sasada, T.; Kobayashi, F.; Sakai, N.; Konakahara, T. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2161.
- [41] Alibeik, M. A.; Shabani, E. *Chin. Chem. Lett.* **2011**, *22*, 1163.
- [42] Rambabu, D.; Kumar, S. K.; Sreenivas, B. Y.; Sandra, S.; Kandale, A.; Misra, P.; Rao M. V. B.; Manoji- Pal. *Tetradron Lett.* **2013**, *54*, 495.
- [43] Tajbakhsh, M.; Hosseinzadeh, R.; Rezaee, P.; Tajbakhsh, M. *Chin. J. Catal.* **2014**, *35*, 58.
- [44] Das, S.; Santra, S.; Jana, S.; Zyryanov, G. V.; Majee, A.; Hajra, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 4955.
- [45] Sivakumar, M.; Prabakaran, K.; Perumal, M. S. *Synth. Commun.* **2018**, *48*, 197.
- [46] Monier, M.; El-Mekabaty, A.; Abdel-Latif D.; Doğru Mert, B.; Elattar, K.M. *Steroids*, **2019**, *154*, 108548.

- [47] Viñas-Bravo, O.; Martínez-Pascual, R.; Vega-Báez, J. L.; Gómez-Calvario, V.; Sandoval-Ramírez, J.; Montiel Smith, S.; Meza-Reyes, S.; López-De la Rosa, A.; Martínez-Montiel, M.; Reyes, M.; Ruiz, A. J. *Steroids*, **2012**, 77, 59.
- [48] Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. J. *Nat Cancer Inst.* **1991**, 83, 757.
- [49] a) Witt, A.; Bergman, J. *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7, 659. b) Connolly, D. J.; Cusack, D.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. *Tetrahedron*, **2005**, 61, 10153; c) Michael, J. P. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 697; d) Michael, J. P. *Nat. Prod. Rep.* **2002**, 19, 742; e) *Nat. Prod. Rep.* **2003**, 20, 476.
- [50] a) Maritinei-Vituro, C. M.; Dominguez, D. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 48, 1023. b) Roumana, A.; Yektaoglu, A.; Pliatsika, D.; Bantzi, M.; Nikolaropoulos, S. S.; Giannis, A.; Foustieris, M. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 4147.
- [51] Roumana, A.; Yektaoglu, A.; Pliatsika, D.; Bantzi, M.; Nikolaropoulos, S. S.; Giannis, A.; Foustieris, M. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 4147.
- [52] Perron, V.; Rabouin, D.; Asselin, É.; Parent, S.; C.-Gaudreault, R.; Bérubé, G. *Bioorg. Chem.* **2005**, 33, 1–15.
- [53] Zhao, F.; Jia, X.; Li, P.; Zhao, J.; Huang, J.; Li, H.; Li, L. *Molecules*, **2017**, 22, 1503.
- [54] Das, S.; Santra, S.; Jana, S.; Zyryanov, G. V.; Majee, A.; Hajra, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, 33, 4955.
- [55] Harris, D. C. (2012). *Análisis químico cuantitativo* (3a.ed). Barcelona: Reverté.
- [56] Meza-Reyes, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Montiel-Smith, S.; Hernández-Linares, G.; Viñas-Bravo, O.; Martínez-Pascual, R.; Fernández-Herrera, M., A.; Vega-Báez, J., L.; Merino-Montiel, P.; Santillán, R., L.; Farfán, N.; Rincón, S., del Río, R., E. *ARKIVOC* **2005**, vi, 307.
- [57] Galindo, R. E.L.; *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, julio, 2019.
- [58] Cortes-Percino, A.; Vega-Báez, J.L.; Romero-Lopez, A.; Puerta, A.; Merino—Montiel, P.; Meza-Reyes, S.; Padrón, J.M.; Montiel Smith, S. *Molecules*, **2019**, 24, 3676.